

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
U.E.R. DE MEDECINE
DE L'UNIVERSITE DE SAINT-ETIENNE
(Application de la convention du 10 Mai 1974)

Année 1977 - N° 288

**APPORT DES TECHNIQUES
DE CYTOGENETIQUE
AU DIAGNOSTIC DES ASCITES MALIGNES
(Statistique portant sur l'examen
de 348 épanchements ascitiques)**

Laboratoire de cytogénétique
Centre de transfusion sanguine de SAINT-ETIENNE
Docteur J. FRAISSE - Professeur agrégé C. P. BRIZARD
Service d'hépto-gastroentérologie - CHU de SAINT-ETIENNE
Professeur agrégé H. FRAISSE

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 27 Juin 1977
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Madame PEILLON née ROCHE Solange

le 10 Janvier 1952

à LA RICAMARIE (Loire)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
U.E.R. DE MEDECINE
DE L'UNIVERSITE DE SAINT-ETIENNE
(Application de la convention du 10 Mai 1974)

Année 1977 - N° 288

**APPORT DES TECHNIQUES
DE CYTOGENETIQUE
AU DIAGNOSTIC DES ASCITES MALIGNES**
**(Statistique portant sur l'examen
de 348 épanchements ascitiques)**

Laboratoire de cytogénétique
Centre de transfusion sanguine de SAINT-ETIENNE
Docteur J. FRAISSE - Professeur agrégé C. P. BRIZARD
Service d'hépto-gastroentérologie - CHU de SAINT-ETIENNE
Professeur agrégé H. FRAISSE

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 27 Juin 1977
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Madame PEILLON née ROCHE Solange

le 10 Janvier 1952

à LA RICAMARIE (Loire)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
U.E.R. DE MEDECINE
DE L'UNIVERSITE DE SAINT-ETIENNE
(Approbation de la commission du 10 mai 1977)

Année 1977 - N° 219

APPORT DES TECHNIQUES
DE CYTOGENETIQUE
AU DIAGNOSTIC DES ASCITES MALIGNES
(Etude portant sur l'examen
de 348 échantillons ascitiques)

Laboratoire de cytogénétique
Centre de transfusion sanguine de SAINT-ETIENNE
Docteur J. FRAISSE - Professeur agrégé C. P. BRICARD
Service d'hépatogastroentérologie - CHU de SAINT-ETIENNE
Professeur agrégé H. FRAISSE



THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 27 Juin 1977
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Madame FEILLON née ROCHE Solange
le 10 Janvier 1952
à LA RICAMARIE (Loire)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université : Monsieur le Professeur D. GERMAIN
Premier Vice-Président : Monsieur le Professeur E. ELBAZ
Deuxième Vice-Président : Monsieur B. ROUSSET
Troisième Vice-Président : Monsieur R. LOPEZ
Secrétaire Général : Monsieur J. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

MEDECINE - GRANGE-BLANCHE - Directeur : Monsieur le Docteur B. SALLE (MCA)
ALEXIS-CARREL Directeur Monsieur le Professeur R. MORNEX
SUD-OUEST Directeur Monsieur le Professeur J. NORMAND
LYON-NORD Directeur Monsieur le Docteur J.P. NEIDHARDT
Directeur
Honoraire : Monsieur le Professeur A. BERTOYE

BIOLOGIE HUMAINE - Directeur : Monsieur le Docteur J.P. REVILLARD (MCA)

TECHNIQUES DE READAPTATION - Directeur : Monsieur le Docteur A. MORGON (MCA)

SCIENCES PHARMACEUTIQUES - Directeur : Monsieur le Professeur BIZOLLON

SCIENCES ODONTOLOGIQUES - Directeur : Monsieur le Docteur R. VINCENT

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :

Président du conseil d'UER : Monsieur le Professeur R. GUILLET

Directeur : Monsieur A. MILLON

MATHEMATIQUES - Directeur : Monsieur le Professeur E. COMBET

PHYSIQUE - Directeur : Monsieur le Professeur J. DELMAU

CHIMIE ET BIOCHIMIE - Directeur : Monsieur le Professeur J. HUET

SCIENCES DE LA NATURE - Directeur : Monsieur le Professeur R. GINET

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES - Directeur : Mademoiselle le Professeur J.F. WORBE

INSTITUT UNIVERSITAIRE ET TECHNOLOGIE N° 1 - Directeur : Mr le professeur B. POUYET

INSTITUT UNIVERSITAIRE ET TECHNOLOGIE N° 2 - Directeur : M.J. GALLET (Directeur
ENSAM)

OBSERVATOIRE - Directeur : Monsieur MONNET (Astronome Adjoint)

PHYSIQUE NUCLEAIRE - Directeur : Monsieur le Professeur GUSAKOW

MECANIQUE - Directeur : Mademoiselle le Professeur G. COMTE-BELLOT.

- UNIVERSITE DE SAINT-ETIENNE -

Président : M. François THOMAS

Secrétaire Général: M. Raymond ROUQUAIROL

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE (U.E.R.)

U.E.R. de Droit	: M. ROBERT André
Institut Universitaire de Technologie	:
U.E.R. des Lettres et Sciences Humaines	: M. GAUME Maxime
U.E.R. de Médecine	: M. le Docteur CABAL Christian
U.E.R. des Sciences	: M. MONTHEARD Jean-Pierre
U.E.R. des Sciences Economique	: M. MIFSUD Pierre

U.E.R. DE MEDECINE

Responsable d'Enseignement

(Collège A)

1er Cycle

Anatomie	Monsieur le Professeur CUILLERET Jacques
Chimie-Biochimie	Monsieur le Professeur FREY Jacques
Physiologie	Monsieur le Professeur LACOUR Jean-René
	Monsieur COUDERT Jean M.C.A.

2ème Cycle

Anatomie Pathologique	Monsieur BARIL Alexandre M.C.A.
Anesthésiologie	Monsieur VIGNON Henry M.C.A.
Bactériologie-Virologie	Mme GAUDIN Odette M.C.A.
Cardiologie	Monsieur VERNEYRE Henri M.C.A.
Chirurgie Infantile	Monsieur CHAVRIER Yves M.C.A.
Dermatologie-Vénérologie	Monsieur DUVERNE Jean M.C.A.
Gynécologie et Obstétrique	Monsieur LA SELVE Antoine M.C.A.
Hématologie, Maladies du Sang	Monsieur BRIZARD Charles M.C.A.
Hépatologie-Gastro-Entérologie	Monsieur FRAISSE Henri M.C.A.
Médecine Interne	Monsieur POTTON François M.C.A.
Médecine Préventive-Hygiène	Monsieur le Professeur RIFFAT Georges
Médecine du Travail	Monsieur CABAL Christian M.C.A.

Néphrologie
Neurochirurgie
Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie
plastique et reconstructive
Pédiatrie, Génétique Médicale

Psychiatrie d'adultes
Radiologie
Thérapeutique, Réanimation médicale
Rééducation fonctionnelle, hydrologie
Ophtalmologie

Monsieur BERTHOUX François M.C.A.
Monsieur DECHAUME Jean-Pierre M.C.A.

Monsieur BOUSQUET Gilles M.C.A.
Monsieur le Professeur FREYCON Fernand
Monsieur LAURAS Benoit M.C.A.
Monsieur PELLET Jacques M.C.A.
Monsieur RUBET Alain M.C.A.

Monsieur QUENEAU Patrice M.C.A.
Monsieur MAUGERY Jean M.C.A.

M E M B R E S d u J U R Y

Président : Monsieur le Professeur D. GERMAIN

Assesseurs: Monsieur le Professeur A. BEL
Monsieur le Professeur Agrégé C.P. BRIZARD
Monsieur le Professeur Agrégé H. FRAISSE
Madame le Docteur J. FRAISSE

A Mes Parents,

*En témoignage de mon affection et de ma reconnaissance
aux efforts qu'ils ont consentis au cours de nos études.*

A Mon Mari - A Ma Fille,

Avec toute ma tendresse.

A Mes Beaux-Parents,

A Toute Ma Famille,

A Mes Amis.

A notre Président de Thèse,

Monsieur le Professeur D. GERMAIN,

Il nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury.

Nous avons été très touché par l'accueil chaleureux qu'il a bien voulu nous réserver.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre sincère reconnaissance.

A NOS JUGES,

Monsieur le Professeur A. BEL,

Il a bien voulu accepter de faire partie de notre jury et nous accueille avec bienveillance. Nous l'en remercions vivement.

Monsieur le Professeur Agrégé C.P. BRIZARD,

Nous avons eu la chance et le grand plaisir de compter parmi ses élèves. Son extraordinaire sens clinique et son constant souci de l'intérêt du malade sont pour nous un modèle. Nous avons tenté de tirer profit de la clarté de son enseignement. Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Monsieur le Professeur Agrégé H. FRAISSE,

Il nous a inspiré ce travail et a bien voulu nous conseiller au cours de sa réalisation. Au cours du semestre passé dans son service, nous avons pu apprécier l'étendue de son expérience, la qualité de son enseignement, son constant souci d'approfondissement et la rigueur de son esprit clinique. Nous l'assurons de notre profonde gratitude et de notre grand respect.

Madame le Docteur J. FRAISSE,

Qui nous a guidé avec bienveillance au cours de l'élaboration de ce travail et qui ne nous a ménagé ni son temps ni ses précieux conseils. Nous avons toujours apprécié son accueil chaleureux à l'égard de tous et admiré sa bonté infinie pour les familles éprouvées qu'elle soutient avec beaucoup de délicatesse et de compréhension, ainsi que son enthousiasme pour l'étude et la recherche en cytogénétique. Qu'elle veuille bien trouver ici le témoignage de notre grande reconnaissance et de notre profond respect.

A Monsieur le Professeur RIFFAT,

A Messieurs les Professeurs Agrégés CUILLERET, LA SELVE, MELEY,
POTTON, VERNEYRE,

A Messieurs les Docteurs BAYLE, BERARD, COLLARD, FAYARD, FULCHIRON,
REVIL,

*Qui ont bien voulu nous confier leurs dossiers cliniques.
Nous les remercions vivement.*

A toute l'équipe du Laboratoire de cytogénétique, Mesdemoiselles
CROUZET et AUBERT ainsi que Mesdames CHEMIN et PRZYBYLSKI,

Nous les remercions vivement de leur accueil toujours sympathique et de leur aide.

A Mademoiselle POUZOLS, secrétaire du Professeur FRAISSE,

*Pour son aide patiente et amicale dans la recherche des dossiers,
Nous l'assurons de notre gratitude.*

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX,

Monsieur le Professeur Agrégé F. POTTON,

Monsieur le Professeur Agrégé H. VERNEYRE,

Monsieur le Professeur Agrégé H. FRAISSE,

Monsieur le Professeur Agrégé A. LA SELVE,

Monsieur le Professeur F. FREYCON,

Monsieur le Professeur Agrégé C.P. BRIZARD,

Monsieur le Docteur F. GEREST.

P L A N

INTRODUCTION

CHAPITRE I

- RAPPEL HISTORIQUE

CHAPITRE II

- MODIFICATIONS DU CARYOTYPE NORMAL EN DEHORS DE LA CARCINOLOGIE

1 - Stabilité du caryotype humain

2 - Modifications chromosomiques constitutionnelles

3 - Modifications chromosomiques acquises

CHAPITRE III

- MODIFICATIONS CHROMOSOMIQUES DANS LE CADRE DE LA CARCINOLOGIE ET CRITERES DE MALIGNITE

1 - Données expérimentales

2 - Données cliniques et critères de malignité

2 - 1 - les anomalies de nombre

2 - 2 - les anomalies de structure

3 - Notion de Marqueur - Notion de Clone - Notion de Variant Commun

CHAPITRE IV

- MATERIEL ET METHODES

1 - Matériel d'étude

2 - Techniques de prélèvement

3 - Techniques de cytogénétique

4 - Observation des lames

5 - Limites de l'examen cytogénétique

CHAPITRE V

- COMPTE-RENDU DES OBSERVATIONS

1 - Etude des ascites bénignes

2 - Etude des ascites malignes

a) Etude cytogénétique - Données générales

b) Etude cytogénétique par appareil

b)1 - Appareil génital

b)1-1- Ovaire

b)1-2- Sein

b)1-3- Col utérin

b)1-4- Corps utérin

b)2 - Cancers primitifs du foie

b)2-1- Hépatomes greffés sur cirrhose

b)2-2- Cancers primitifs du foie sans cirrhose

b)3 - Tube digestif et glandes annexes

b)3-1- Estomac

b)3-2- Recto-colon

b)3-3- Pancréas

b)3-4- Vésicule et voies biliaires

b)4 - Ascites d'origine diverse

b)4-1- Mésothéliomes péritonéaux

b)4-2- Maladie de Waldenstrom

b)4-3- Rein

b)4-4- Cancers du foie d'origine métastatique

b)4-5- Carcinomes péritonéaux d'origine indéterminée

3 - Etude des 32 cas où le diagnostic clinique est imprécis

CHAPITRE VI

- JUSTIFICATION DES CRITERES PAR LES RESULTATS

1 - Population témoin - Les ascites bénignes

2 - Les ascites malignes

- a) Résultats cytogénétiques
- b) Résultats en cytologie et comparaison

CHAPITRE VII

- DISCUSSION A PROPOS DE CAS PARTICULIERS

- 1 - Hépatomes greffés sur cirrhose
- 2 - Polysérites
- 3 - Description d'une observation isolée
- 4 - De l'influence de la chimiothérapie
- 5 - De l'utilité des techniques de bandes

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE.

-oOo-

I N T R O D U C T I O N

Le diagnostic d'ascite maligne n'est pas toujours une évidence. Si l'ascite peut être en effet l'expression tardive d'un cancer depuis longtemps diagnostiqué, si elle peut être le témoin évident de la récurrence d'une tumeur opérée, elle représente souvent le signe révélateur d'une tumeur latente.

Certes, l'interrogatoire, l'examen peuvent apporter alors au diagnostic des éléments décisifs, mais là n'est pas la règle.

Aussi la possibilité de détecter dans le liquide d'épanchement la présence de cellules malignes s'avère-t-elle infiniment précieuse. Cependant, dans ce domaine, la cytologie classique a des impératifs et des limites bien connus : nécessité d'un cytologiste hautement qualifié, mais même alors fréquence importante de "suspects" et de "faux-négatifs".

L'application à l'étude du liquide d'effusion des techniques de cytogénétique est-elle susceptible de venir épauler la cytologie et de restreindre ce lot d'exams décevants ? C'est à cette question que ce travail espérera répondre.

Notre étude comprendra successivement :

- un rappel historique des observations des chromosomes dans le cancer et un exposé des données actuelles permettant une classification rigoureuse des chromosomes ;

- un bref recensement des modifications du caryotype normal en dehors de la carcinologie ;

- une revue des modifications chromosomiques dans le cadre des néoplasies expérimentales et cliniques et des critères de malignité communément admis ;

- une mise au point sur le matériel et les méthodes employées au laboratoire : techniques de préparation et lecture des lames ;
- une présentation des résultats obtenus ;
- une discussion sur la justification des critères et la comparaison avec les résultats obtenus en cytologie ;
- une revue rapide de quelques cas particuliers qui ont retenu notre attention.

Nous tenterons de tirer des conclusions sur l'intérêt diagnostique de l'étude des cellules des épanchements par les techniques de cytogénétique.

-oOo-

CHAPITRE I

RAPPEL HISTORIQUE

Les constatations de modifications chromosomiques au cours des cancers sont connues depuis la fin du siècle dernier, bien avant même que le génôme humain soit connu avec précision.

A la fin du XIXème, VON HANSEMAN (1890) met en évidence des irrégularités mitotiques et des anomalies chromosomiques dans le cancer.

La première théorie chromosomique de la cancérogénèse est proposée par BOVERI (1914) (11). Il formule l'hypothèse selon laquelle une mutation dans la constitution génétique d'une cellule somatique, et plus particulièrement une modification chromosomique, explique la transformation d'une cellule normale en une cellule maligne. Il voit dans la mutation chromosomique la cause première du cancer ; toute modification chromosomique entraîne une modification des propriétés de la cellule. L'origine de la modification, le processus qui l'a créée sont secondaires : pour BOVERI, c'est le déséquilibre génique au sein du noyau qui sera le point de départ de la malignité. L'évènement peut être isolé et il écrit : "chaque tumeur trouve son origine dans une cellule unique". La notion de clone apparaît dans les conclusions de BOVERI.

La modification chromosomique peut être numérique, dépendant d'un facteur de non disjonction ; mais dans certains cas, cette anomalie grossière n'existe pas ; il faut alors rechercher une anomalie structurale ou une combinaison aberrante ; en l'absence de toute perturbation détectable, BOVERI évoque alors la possibilité d'une modification à l'échelle moléculaire échappant à l'étude microscopique. Ainsi les critères chromosomiques, anomalies de nombre et de structure, sont déjà envisagés et le problème des pseudo-diploïdies est déjà souligné.

Si le type d'une tumeur dépend de la perte ou de l'acquisition d'un chromosome particulier, plus la déviation à partir de la normale sera grande, plus la tumeur se différencie du tissu d'origine. Sur ce point particulier, il semble que la qualité du contenu génique est plus importante que l'apparente perturbation chromosomique. Néanmoins les observations de BOVERI restent valables dans la majorité des cas.

Dans les tissus à régénération rapide, le risque d'apparition d'une tumeur est accru ; il est lié au risque croissant de mitoses anormales. Le risque s'accroît également avec l'âge du sujet, le vieillissement entraînant des anomalies de distribution chromosomique.

BOVERI termine son ouvrage en souhaitant que les techniques d'analyse des chromosomes se perfectionnent et puissent confirmer sa théorie.

Depuis 1936, les progrès dans les techniques de mise en évidence des chromosomes, souhaités par BOVERI, se sont réalisés : utilisation de la colchicine comme poison de fuseau, permettant d'obtenir un plus grand nombre de cellules en métaphase, puis découverte du choc hypotonique par HSU (1952) assurant un gonflement de la membrane nucléaire et une dispersion convenable des chromosomes.

La numération des chromosomes et l'étude de leur morphologie spécifique devient alors possible ; en 1956, TJIO et LEVAN (73) montrent que la cellule humaine est diploïde à 46 chromosomes et non 48 comme on l'admettait généralement. En 1960, la Conférence de Denver établit une classification des paires chromosomiques.

Les études cytogénétiques des tumeurs et des épanchements néoplasiques peuvent donner quelques résultats dès cette époque et les auteurs suivants doivent être mentionnés :

HANSEN-MELANDER (1956) (37) trouvent l'aneuploïdie décrite par BOVERI dans les cellules d'un épanchement ascitique par métastase ovarienne et proposent alors l'étude des chromosomes comme moyen de diagnostic.

ISING et LEVAN (1957) (44), KOLLER (1956) (47) décrivent la diversité des anomalies de structure et la dispersion du nombre des chromosomes de cellule à cellule dans les tumeurs humaines. NOWELL et HUNGERFORD (1960) (61) découvrent un chromosome modifié dans les leucémies myéloïdes chroniques - c'est le chromosome de Philadelphie. Pour la première fois l'association entre une anomalie spécifique et un type particulier de leucémie est décrite. Depuis cette date, on tentera de trouver d'autres exemples de "variant commun" mais il est encore trop tôt pour affirmer l'existence d'anomalies particulières à un type de tumeur donné.

Depuis 1961 les études se multiplient et les publications décrivent des résultats identiques : l'absence des altérations chromosomiques dans les cellules des épanchements de nature non cancéreuse (ISHIHARA et MAKINO) en 1960 (40) sur les ascites cirrhotiques et les épanchements de nature tuberculeuse) la quasi constance des anomalies chromosomiques des cellules malignes.

JACOB (1961) (45) et GOODLIN (1963) (31) proposent l'utilisation des caryotypes des cellules des liquides d'épanchement pour le diagnostic du cancer.

ISHIHARA (1963) (41) (42) rapporte les anomalies du caryotype des cellules d'épanchements métastatiques (aneuploïdie, pseudo diploïdie, chromosomes anormaux) et insiste sur l'apport considérable de l'étude cytogénétique pour le diagnostic des épanchements.

En France, d'importantes contributions à l'étude des chromosomes des tumeurs ont été apportées à partir de 1966 par GROUCHY, BERGER, LEGRAND (48).

La thèse de doctorat ès sciences de Roland BERGER (6) (Paris 1968) a pour sujet la méthodologie de l'analyse des chromosomes des tumeurs. Il tente de trouver sinon un "variant commun", du moins un profil chromosomique commun pour des types histologiques voisins. Les travaux d'ATKIN en Angleterre continuent dans cette voie en essayant de trouver des analogies pour des tumeurs ayant un même organe pour point de départ.

Mais jusqu'en 1970, la classification des chromosomes et l'étude des remaniements structuraux au sein d'une cellule néoplasique sont limitées. Les besoins de moyens d'investigations plus poussés se font sentir et les chercheurs s'orientent vers la mise au point de techniques plus sélectives. L'observation d'un matériel très utilisé par les expérimentateurs, les chromosomes polytènes de *Drosophila Melanogaster*, laisse supposer l'existence de structures en bandes similaires sur les chromosomes humains.

De nombreuses méthodes pour obtenir une différenciation plus sélective des chromosomes sont alors mises en oeuvre : la première découverte est faite par CASPERSON (1970) (15) qui utilise un agent alkylant, la moutarde à la quina-crène ; observés en lumière ultra violette, les chromosomes présentent des structures alternativement brillantes et sombres ; la dimension des bandes, l'intensité de la fluorescence, leur répartition sont spécifiques pour chaque paire de chromosomes et une classification rigoureuse devient possible.

Entre 1970 et 1972, les recherches sont très orientées sur la mise en évidence de structures différentielles.

ARRIGHI et HSU (1971) (1) puis YUNIS (1971), se basant sur le principe de dénaturation de l'ADN en chauffant les préparations entre 85° et 100°, obtiennent un marquage sélectif après coloration par le Giemsa des régions juxta centromériques qui apparaissent en violet sombre, le reste des chromatides, prenant peu le colorant, restant donc pâles.

DUTRILLAUX (1971) reprenant l'expérimentation de YUNIS en faisant varier les temps, température et pH de ses solutions obtient des bandes séquentielles. La coloration par le Giemsa montre une localisation de ces bandes inverse des bandes obtenues par la quinacrine, l'ordre des séquences étant le même.

L'introduction dans la technique d'un milieu ionique complexe (CARPENTIER 1972) (14) permet d'obtenir un marquage remarquablement sélectif.

Au cours de la même période, SUMMER (71) en Grande Bretagne, SCHNEDL en Autriche travaillant également selon le principe de YUNIS, mais en utilisant préalablement une fixation par l'acide acétique, obtiennent également un marquage par bandes des chromosomes ; les zones colorées par le Giemsa sont les mêmes que les zones fluorescentes de GASPERSOHN.

A la conférence de Paris en 1972, une nomenclature nouvelle est établie : les bandes Q comme quinacrine, les bandes G comme Giemsa, les bandes R (DUTRILLAUX) comme "reverse" par opposition aux bandes Q et G et les bandes C comme "centromères" selon la technique de YUNIS (Cf. schéma n° 1).

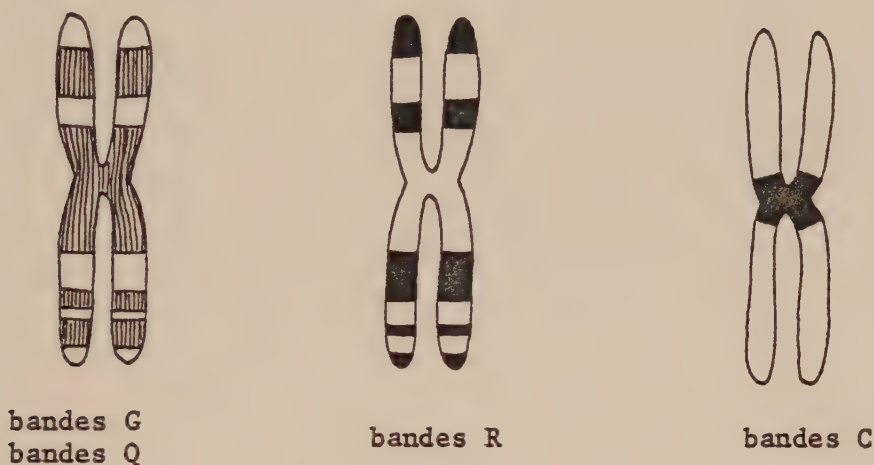


Schéma n° 1

Exemple des différents types de bandes : schéma du chromosome 3

Depuis lors de nombreuses techniques sont mises au point ; on citera les principales :

- les bandes G obtenues par digestion enzymatique (DUTRILLAUX - GROUCHY) (19) ou par l'action de l'urée (BERGER),

- les bandes R obtenues par coloration à l'acridine orange après traitement préalable par du BUDR (bromodeoxyuridine) et lecture en lumière ultraviolette (DUTRILLAUX) (21).

- les bandes T qui dérivent des bandes R et mettent l'accent sur les portions télomériques des chromosomes (DUTRILLAUX) (20).

Depuis 1973, l'utilisation du BUDR (Bromodesoxyuridine) dans certains cas particuliers permet d'étudier avec plus de précision certaines paires chromosomiques (4 et X) mais surtout de mettre en évidence certaines particularités dynamiques de la réplication de l'ADN.

Ainsi avec les techniques des bandes s'est ouverte une ère nouvelle de la génétique et est né l'espoir, par une étude plus précise des altérations du génôme des cellules néoplasiques, de pouvoir approcher du mécanisme de la cancérogénèse.

-oOo-

CHAPITRE II

MODIFICATIONS DU CARYOTYPE NORMAL EN DEHORS DE LA CARCINOLOGIE

1 - STABILITE DU CARYOTYPE HUMAIN :

Le caryotype d'un sujet normal est remarquablement stable, la garniture chromosomique comprend 23 paires de chromosomes : 22 paires d'autosomes et 2 gonosomes, chaque paire chromosomique ayant une morphologie définie.

La conférence de Denver (1960) établit une nomenclature internationale ; deux paramètres sont utilisés : longueur relative (l) variant de 8,8 à 1,6 unités et indice centromérique (Ic) (Cf. schéma n° 2).

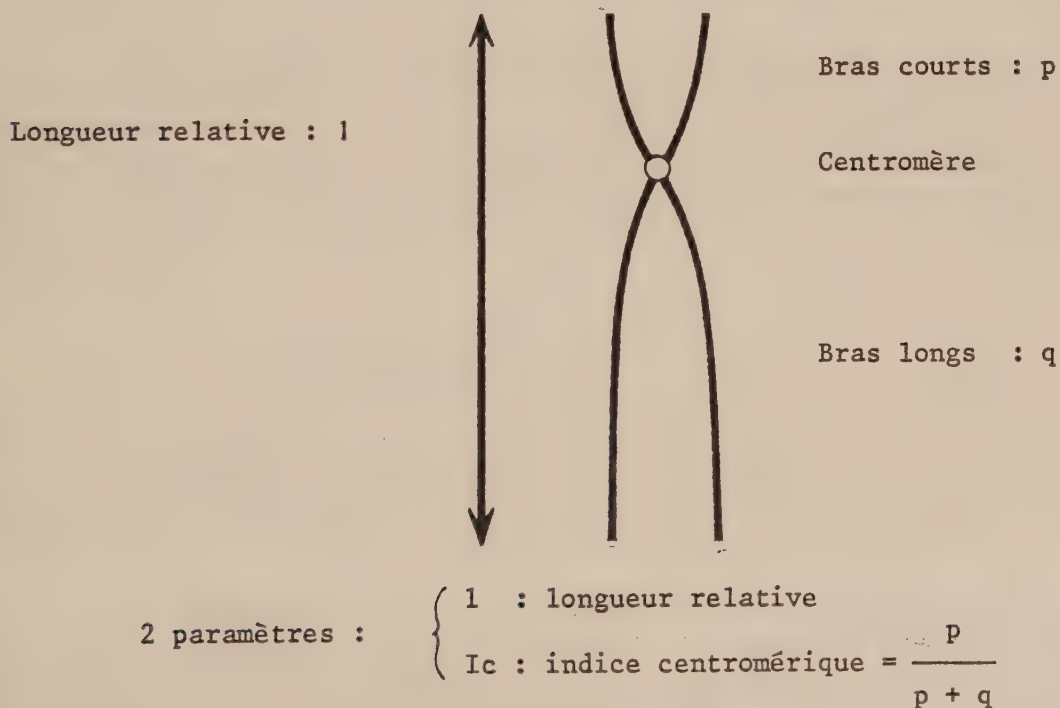


Schéma n° 2

A partir de 1972, les techniques de banding utilisant des méthodes physicochimiques permettent un classement rigoureux, chaque chromosome étant individualisé par l'organisation séquentielle des bandes (Conférence de Paris 1972).

Il existe quelques variantes physiologiques : le mégacaryocyte est une cellule naturellement polyploïde et dans le cadre de l'observation de la moëlle, il n'est pas rare de trouver des cellules tétraploïdes et même octoploïdes ; dans les cultures cellulaires, on peut également trouver un faible pourcentage (0,5 à 1 %) de mitoses tétraploïdes qui sont considérées comme normales ; de même ce phénomène peut se rencontrer dans un tissu à renouvellement rapide.

Dans le cadre de la structure chromosomique, les variations des segments hétérochromatiques des constriction secondaires, mieux connues depuis les techniques récentes (bandes C) sont habituelles pour les chromosomes I, 9, 16, et Y, ainsi que les satellites des acrocentriques. Elles représentent un caractère héréditaire dominant et peuvent ainsi être utilisées en médecine légale et en génétique des populations (DUTRILLAUX) (22).

La stabilité remarquable de la garniture chromosomique est cependant soumise à des accidents, soit erreur de distribution des chromosomes au moment de la méiose ou de la mitose créant des anomalies numériques, soit lésions des brins chromosomiques par des agents extérieurs aboutissant à des anomalies de structure.

2 - MODIFICATIONS CHROMOSOMIQUES CONSTITUTIONNELLES :

Les anomalies constitutionnelles sont présentes dans toutes les cellules d'un même individu. L'anomalie a été apportée par un gamète d'origine paternelle ou maternelle, les cellules dérivant de l'oeuf seront toutes porteuses de la même anomalie. Deux types d'anomalies peuvent se produire : anomalies de structure de variété infinie ou anomalies de nombre plus limitées. Le génotype de l'individu sera donc toujours anormal. Le phénotype sera selon le type d'anomalie affecté ou non.

2 - 1 - Anomalies de structure :

Si l'anomalie est "équilibrée" : échange de 2 fragments entre 2 chromosomes non homologues résultant d'une cassure au moment de la méiose, le phénotype du sujet n'est pas affecté, pas de modification du dosage génique.

Si l'anomalie est "déséquilibrée" : les chromosomes porteurs de la translocation réciproque ayant été séparés à la dernière division méiotique, le sujet aura un phénotype anormal : soit lié à un déficit génique, soit lié à une surcharge génique (translocation déséquilibrée). Le premier exemple de déficit décrit a été la délétion des bras courts du chromosome 5 de la "maladie du cri du chat".

2 - 2 - Anomalies de nombre :

Dans ce cas, le génome est toujours déséquilibré, soit par surcharge, soit par déficit génique et le phénotype est toujours affecté.

Par exemple, anomalie de nombre autosomique : la trisomie 21, présence d'un caryotype à 47 chromosomes (3 chromosomes 21) ; anomalie de nombre gonosomique : syndrome de Klinefelter (47XXY) = surcharge, syndrome de Turner (45X0) = déficit.

2 - 3 - Fragilité chromosomique constitutionnelle :

Certains sujets présentent une fragilité chromosomique qui peut être mise en évidence dans les cultures cellulaires : lacunes chromatidiennes, cassures avec fragments, images d'association entre chromosomes lésés. Ces fragilités chromosomiques font généralement partie d'un syndrome clinique connu, tel le Xéoderma pigmentosum, l'ataxie télangectasie, la maladie de Bloom, l'anémie de Fanconi. Si le sujet atteint d'anémie de Fanconi meurt précocement par épuisement médullaire, les autres syndromes sont connus pour évoluer vers la cancérisation.

3 - MODIFICATIONS CHROMOSOMIQUES ACQUISES :

A la différence des anomalies constitutionnelles, les anomalies "acquises" n'affectent pas l'ensemble des cellules de l'organisme et sont localisées à une population limitée.

Trois types d'agents sont connus pour provoquer des anomalies chromosomiques. Ils ont été étudiés expérimentalement et leur effet a été constaté également in vivo.

3 - 1 - Les radiations ionisantes :

De nombreux auteurs se sont intéressés aux populations survivantes d'Hiroshima (10) (43). La persistance d'anomalies chromosomiques a été notée sur des prélèvements pratiqués 10 ans après l'exposition aux radiations, les anomalies acquises étant donc des anomalies stables. La relation entre le taux de leucémie observé dans cette population irradiée et celui observé dans une population normale montre une différence significative (ISCHIMARU) (43).

Les expériences effectuées sur des cultures de lymphocytes irradiées

in vitro ont permis de préciser des rapports entre les doses de radiations et les dégâts chromosomiques observés ; la quantité d'anomalies chromosomiques ou chromatidiennes est proportionnelle à la dose.

Les anomalies constatées, sont extrêmement variées : lacunes chromatidiennes, anneaux, cassures, délétions, échanges entre chromosomes, chromosomes minutes, dicentriques, pulvérisations. Les cellules trop lésées meurent. Par contre certains changements sont compatibles avec une survie cellulaire et ce sont eux que l'on peut trouver dans les années suivant une radiation (même à dose thérapeutique). Ces types d'anomalies sont répartis au hasard.

3 - 2 - Les substances chimiques :

Des anomalies chromosomiques induites par des substances chimiques ont été décrites ; in vitro, Nitrosamine chez "Vicia Faba" (GRANT) (33) ; en industrie ; Benzopyrène ; en thérapeutique, certains médicaments doués de propriétés cytostatiques utilisés dans le traitement des leucémies, tel la Rubidomycine (GROUCHY) (35).

Les altérations provoquées par la Rubidomycine (GROUCHY) sur des cellules médullaires et des lymphocytes sanguins cultivés in vitro sont létales à la dose thérapeutique (2 milligrammes par kilogramme de poids). Avec une dose moindre, la survie cellulaire est possible, la fréquence des cellules anormales étant proportionnelle à la dose. Les remaniements chromosomiques sont très différents de ceux observés après irradiation : faible pourcentage de chromosomes en anneaux et de dicentriques, fréquence des figures tri ou quadriradiales. Enfin la Rubidomycine modifie la morphologie des chromosomes, comme si l'agent chimique altérait les chromatides dans leur ensemble alors que les rayons X provoquent des lésions localisées ; ainsi les chromosomes apparaissent flous ou bien étirés avec de nombreuses pseudoconstrictions.

3 - 3 - Les virus :

De nombreux virus sont responsables de modifications chromosomiques (rougeole, rubéole, virus de l'herpès, virus d'Epstein Barr, SV 40, poliovirus, etc.).

Les anomalies observées dans les cellules contaminées sont très importantes et consistent même en une pulvérisation de tous les chromosomes. Des lésions de cette importance sont en général létales et ne sont observables qu'à court terme.

Les lésions chromosomiques sont le plus souvent distribuées au hasard. Cependant, lors de l'infection par certains virus, il a été décrit des altérations spécifiques survenant sur un chromosome donné.

L'exemple le plus classique, a été rapporté par ZUR HAUSEN (77) puis par MC DOUGALL (53) (54) à propos de l'infection de cultures de cellules humaines par l'adénovirus 12 ; on observe avec une grande fréquence (60 %) une lacune ou une cassure sur le chromosome 17. Les adénovirus 31 et 18 peuvent causer une lésion semblable avec une fréquence plus basse. Le locus de la thymidine kinase se trouve sur ce chromosome ; aussi il semblerait possible qu'une production de thymidine kinase soit nécessaire au virus pour la synthèse du nouvel acide nucléique viral et que pour cela le virus interfère sur ce locus particulier.

MOORHEAD et SAKSELA (57) ont mis en évidence des cassures au niveau des constriction secondaires des chromosomes 1, 9 et 16 et des régions centromériques dans des cellules humaines transformées par le Simian Vacuolating Virus 40 (SV40).

On a également décrit dans les cellules provenant de lymphomes de Burkitt, dans lesquels on trouve des virus d'Epstein Barr (virus EB), des aberrations particulières : un marqueur 14q+ (MALONOV et MALONOVA) (52), un marqueur 8q- (ZECH et Col.) (76), ce dernier évoquant la possibilité d'une translocation t(8q ; 14q). Mais la relation spécifique entre ces lésions et le virus EB est remise en cause actuellement, car ces marqueurs ont été observés dans d'autres lymphomes malins ZECH (76) - FLEISCHMANN et PRIGOGINA (24)).

Ces recherches de lésions spécifiques n'ont donc pas encore permis d'apporter des conclusions satisfaisantes, ni d'établir clairement le rôle des virus dans l'oncogénèse, l'exemple des lésions spécifiques de l'adénovirus 12 sur le chromosome 17 restant le plus typique.

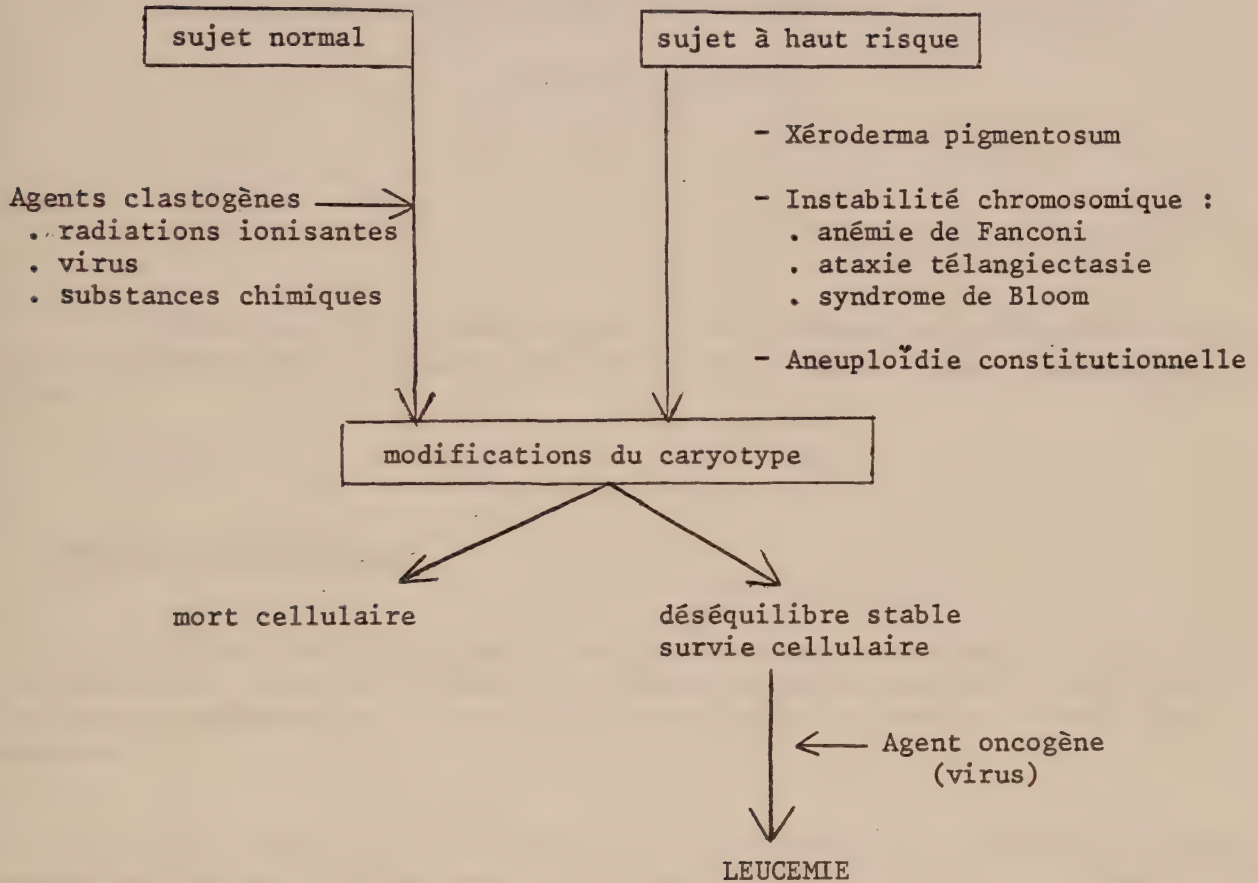
La liaison entre anomalies chromosomiques constitutionnelles ou acquises et le phénomène de cancérisation mérite d'être soulignée.

Les sujets porteurs de déséquilibre chromosomique constitutionnel sont prédisposés aux affections malignes ; l'exemple classique est celui de la trisomie 21, les enfants mongoliens ont un risque 20 fois supérieur par rapport aux sujets normaux de faire une leucémie myéloblastique.

Les sujets génétiquement atteints de fragilité chromosomique rentrent dans la catégorie des sujets présentant un haut risque de cancérisation.

Enfin tout sujet normal ayant été soumis à des agents agressifs pour la chaîne d'A.D.N. est plus qu'un autre candidat à un processus néoplasique : par exemple irradiations et leucémie : populations d'HIROSHIMA ; virus d'Epstein-Barr et lymphome de Burkitt (KOHN) (46).

Le schéma suivant, que nous empruntons à D. GERMAIN, résume clairement ces données ; il est bien admis dans le domaine de la leucémogénèse.



Il est intéressant d'évoquer ce schéma dans le cadre plus général de la cancérogénèse. Il faut admettre que des altérations à l'échelle moléculaire échappent totalement à la microscopie optique, mais, ainsi que le rappelle C. MOURIQUAND (60) dans une étude sur l'action des rayonnements ionisants sur les chromosomes humains : " ces altérations moléculaires, trop discrètes pour avoir un retentissement morphologique, sont sans doute très importantes en ce qu'elles dévient suffisamment le métabolisme cellulaire pour rendre l'élément anormal et lui permettre de proliférer, mais insuffisamment pour compromettre son existence ".

CHAPITRE III

MODIFICATIONS CHROMOSOMIQUES DANS LE CADRE DE LA CARCINOLOGIE ET CRITERES DE MALIGNITE

Elles ont été rapportées dans de très nombreuses publications à la suite d'observations de tumeurs induites in vitro et de tumeurs spontanées in vivo.

1 - DONNEES EXPERIMENTALES :

Il est possible d'induire expérimentalement des tumeurs grâce à l'action de divers agents (radiations ionisantes, virus ou substances chimiques) ; ces tumeurs induites ont l'avantage de représenter un matériel d'étude très abondant.

Leur observation confirme la quasi-constance des perturbations chromosomiques des cellules malignes, alors que l'animal étudié ou la culture cellulaire en était initialement dépourvu.

DIPAULO (18) a expérimenté grâce aux techniques récentes de banding la constitution chromosomique de cellules transformées in vitro par des agents carcinogènes chimiques chez des hamsters syriens ;

Il transforme d'abord des cellules provenant de foetus de mères différentes par un agent chimique (benzopyrène ou aflatoxine B ou propanesulfone) ; les lignées transformées sont injectées à des hamsters et induisent le développement de fibrosarcomes au point d'injection ; la tumeur induite est remise en culture et ce sont ces cultures de tumeur qui sont étudiées ;

L'expérimentation donne les résultats suivants :

- les caryotypes des lignées transformées et des tumeurs induites correspondantes sont similaires ; ils présentent des marqueurs ayant un schéma en technique de bandes identique.

- Les caryotypes des lignées transformées par des agents chimiques différents sur les foetus d'une même mère peuvent présenter le même marqueur spécifique.

- Les caryotypes des lignées transformées par le même agent chimique chez des foetus de mères différentes ont des marqueurs différents.

Il peut en conclure que les anomalies chromosomiques sont stables chez un hôte déterminé, mais non comparables à celles de l'hôte voisin ; elles ne sont pas étroitement dépendantes de l'agent causal ; la notion de cancer individualisé par son propre clone peut être retenue. Les altérations chromosomiques sont capable d'entraîner une croissance anarchique des cellules modifiées ; mais la question de savoir si les changements chromosomiques sont à l'origine de la carcinogénèse reste sans réponse.

2 - DONNES CLINIQUES ET CRITERES DE MALIGNITE :

Grâce aux multiples travaux sur les tumeurs et épanchements malins de HANSEN-MELANDER, JACOB, GOODLIN, ISHIHARA, SANDBERG, BENEDICT et PORTER pour ne citer qu'eux, les perturbations chromosomiques des cellules malignes humaines sont maintenant bien connues.

Leur quasi-constance est universellement reconnue et l'on admet que la présence de mitoses diploïdes s'explique par l'existence de cellules parasites du stroma ou de cellules inflammatoires et surtout par l'imprécision des procédés actuels de cytogénétique masquant des anomalies discrètes (fausses diploïdies) ; les techniques de banding peuvent dans ces cas être d'un grand secours, mais on ne peut exclure la présence d'anomalies moléculaires non détectables par les moyens optiques.

La diversité des anomalies chromosomiques a été bien étudiée et ont pu en être dégagés des critères de malignité admis par tous. Les perturbations du caryotype consistent en modifications du nombre des chromosomes et en modifications de leur structure.

2 - 1 - Les anomalies de nombre :

Elles ont été décrites les premières. Les cellules malignes s'écartent du nombre diploïde $2n = 46$ pour s'organiser autour d'un mode souvent préférentiel qui peut être parfois hypodiploïde, le plus souvent hyperdiploïde, triploïde et au delà.

L'hyperploïdie répétée constitue à elle seule un critère absolu ; elle peut varier de 47 à 200 - 300 chromosomes et parfois plus ; l'enchevêtrement et la superposition des chromosomes rend alors difficile le comptage de l'interprétation de la morphologie. La prudence s'impose si l'aneuploïdie avoisine 92 : un trouble de la division de nature non maligne peut survenir ; le montage d'un caryotype est indispensable dans ce cas pour distinguer une tétraploïdie vraie d'une hyperploïdie maligne avec répartition non homogène des chromosomes selon les groupes.

L'hypoploïdie doit être considérée avec beaucoup d'attention, un artefact, dû au choc d'éclatement entraînant une dispersion excessive des chromosomes normaux n'est pas considérée comme maligne. Cependant, si l'on dispose d'un nombre suffisant de mitoses et que le mode hypoploïde est bien établi avec pertes sélectives d'un ou plusieurs groupes, on peut alors affirmer qu'il s'agit d'un véritable clone malin.

Le problème des mitoses en apparence diploïdes a déjà été évoqué. Rappelons seulement la nécessité de montage d'un caryotype pour contrôler la normalité de la cellule : il peut y avoir perte d'un chromosome dans un groupe et gain compensateur dans un autre, de même que certains peuvent avoir subi des remaniements structuraux.

2 - 2 - Les anomalies de structure :

Elles représentent un critère absolu admis par tous. Certaines perturbations demandent cependant à être discutées : lacune, cassure, fragments acentriques peuvent être les témoins d'une exposition même ancienne à des radiations ionisantes, substances chimiques ou virus. Mais elles ne résistent en général pas à un examen approfondi.

Les remaniements de structure rencontrés sont le plus souvent directement repérables optiquement par leur morphologie très inhabituelle (taille excessivement grande ou petite, indice centromérique aberrant). Ils nécessitent cependant leur mise en évidence par les techniques d'étude des structures fines (banding), (translocation avec échanges de fragments de même longueur ne modifiant pas la morphologie apparente des 2 chromosomes).

Toute une gamme d'aberrations structurales a été observée. On parle de "délétion" en cas de perte d'un fragment de chromosome, de "translocation" lors d'un transfert d'un chromosome entier ou d'une partie sur un autre élément ; on distingue trois types de translocation, la translocation simple par gain d'un fragment d'origine indéterminée, la translocation équilibrée par échange de 2 fragments entre 2 chromosomes différents et la translocation robertsonnienne par fusion centrique (chromosomes pseudo A par fusion de chromosomes D, pseudo F par fusion de 2 chromosomes G, pseudo C par fusion d'un chromosome D et un chromosome G).

D'autres aspects sont totalement anormaux et repérables au premier coup d'oeil : "anneaux" par accollement des 2 extrémités d'un même chromosome, "dicentriques" résultant de la réunion de 2 chromosomes par leurs extrémités, fragments de chromosomes munis d'un centromère ou acentriques de taille parfois minuscule, on appelle ces derniers des chromosomes "minutes", fréquence des endomitoses par duplication du nombre des chromosomes sans division de la membrane nucléaire avec formation de noyaux tétraploïdes.

Depuis la découverte des techniques de bandes, quelques essais ont été pratiqués pour tenter d'identifier l'origine des chromosomes anormaux ; il est apparu que, pour un caryotype de cellule maligne donnée, on peut parfois mettre en évidence des phénomènes de translocation, qui sont à l'origine de la constitution des néochromosomes. BERGER (69) dans une étude "des anomalies chromosomiques dans un cancer de l'ovaire" conclue : "les remaniements de structure des chromosomes des cellules cancéreuses sont souvent considérables, mais il semble qu'ils entraînent plus une redistribution du matériel génétique, en particulier par la production de translocations, que des pertes complètes de chromosomes".

3 - NOTION DE MARQUEUR - NOTION DE CLONE - NOTION DE VARIANT COMMUN :

Des multiples études de cellules malignes se dégagent, malgré la diversité des anomalies, un certain nombre d'éléments communs aux états néoplasiques.

On parle de "marqueur" à propos d'un chromosome remanié, présent dans les différentes cellules d'une même tumeur d'un malade donné.

Sa morphologie anormale peut être une simple modification de taille, ou se caractérise par un indice centromérique aberrant (grand acrocentrique de la taille d'un chromosome A ou B par exemple).

Sa physionomie particulière le rend repérable au microscope avant même que la photographie ait permis le découpage.

On le retrouve chez le même malade en simple, double (Photos n° 6 et 7) et parfois triple exemplaire ; sa duplication est de mauvaise augure ; elle va souvent de pair avec une aggravation dans l'évolution tumorale avec capacité de prolifération accrue.

Une même cellule néoplasique peut posséder plusieurs marqueurs différents, mais le caractère essentiel, définissant les marqueurs, est la présence de ce ou ces chromosomes remaniés dans la quasi-totalité des mitoses observées chez un même malade.

On peut parler de marqueurs également quand un chromosome d'un groupe bien défini de morphologie normale est retrouvé en nombre excédentaire dans une population cellulaire donnée (exemple: chromosome 8 dans certains syndromes myéloprolifératifs, PHILIP (67), VAN DEN BERGHE).

Les marqueurs sont donc le trait commun entre les différentes cellules constituant une même tumeur dont aucun caryotype n'est rigoureusement identique. On en arrive donc à supposer que les cellules tumorales appartiennent à une même lignée provenant d'une même cellule souche, "l'ancêtre commun" comme l'appelle R. BERGER (9).

L'existence de marqueurs a permis d'évoquer la notion de clone cellulaire malin ainsi que BOVERI en avait pressenti l'existence. Sa réalité semble bien prouvée par les constatations que l'on a pu faire récemment ; malgré l'anarchie apparente des mitoses d'une même tumeur, une néoplasie, chez un malade donné, semble caractérisée, outre par ses marqueurs, par un nombre modal et des pertes ou gains sélectifs dans un ou plusieurs groupes de chromosomes. Ce clone bien organisé se retrouve avec ses caractéristiques propres, après une période de traitement avec rémission, lors de rechute. Il peut subir une évolution progressive au cours de la maladie avec duplication de chromosome marqueur et acquisition d'autres chromosomes anormaux (PETER - NOWEL) (66). Cette notion de clone a fait espérer qu'on pourrait définir une tumeur d'un type histologique donné par ses particularités chromosomiques ainsi qu'il a été possible de le faire avec la leucémie myéloïde chronique (L.M.C.).

Le chromosome de Philadelphie (Ph_1) est le premier et toujours unique modèle de variant commun d'un type néoplasique particulier.

Ce chromosome, plus petit que les chromosomes du groupe G, découvert par NOWELL et HUNGERFORD (61) dans les cellules sanguines et médullaires de la lignée granulocytaire, est présent dans tous les cas de L.M.C. classiques ; J. ROWLEY, en 1973, (68) en employant la méthode de marquage des chromosomes par la quinacrine a pu objectiver qu'il s'agit d'une translocation équilibrée 22-9 ; très rapidement VAN DEN BERGHE, en 1973, (75) a précisé cette modification. Son apparition est antérieure au début clinique de la maladie et on admet que, lorsque ce chromosome anormal apparaît dans une cellule hématopoiétique primitivement saine, celle ci devient la cellule ancestrale du clone leucémique. Ce Ph_1 correspond à la phase chronique de la maladie ; lors de la transformation aiguë,

il se duplique parfois et la cellule acquiert également des chromosomes supplémentaires ,le plus souvent un chromosome 8. (GROUCHY) (36).

En conclusion, cette translocation équilibrée de la L.M.C. est donc la preuve de la possibilité d'existence de marqueur variant commun, caractéristique pathognomonique de la maladie. Après la découverte de cet exemple magistral du Ph_1 , on était en mesure d'attendre la mise en évidence d'autres anomalies stables de type variant commun définissant des états néoplasiques précis ; les recherches actuelles orientées dans ce sens restent encore décevantes.

On a obtenu peut-être quelques éléments plus précis à propos du cancer de l'ovaire ; un point commun a été retrouvé dans certains cas : un chromosome Bp- (LEJEUNE et BERGER) (50) identifié comme un 5p- par BERGER et LACOUR (1974) (9) ; celui-ci a été également retrouvé dans notre laboratoire. Les résultats sont cependant insuffisants et seul actuellement le Ph_1 de la L.M.C. reste l'exemple modèle du variant commun définissant la maladie.

CHAPITRE IV

MATERIEL ET METHODES

I - MATERIEL D'ETUDE :

Notre travail porte sur l'étude de l'apport fourni par l'observation de liquides d'épanchement péritonéal traités par les techniques de cytogénétique. 348 malades ont fait l'objet d'un tel examen.

Ces cas s'échelonnent sur une période de cinq ans : de décembre 1970, date à laquelle l'examen n'a plus été pratiqué à titre purement expérimental, mais a été orienté dans le sens d'un avis diagnostique à fournir au clinicien, au 31 décembre 1976, date déterminée arbitrairement pour clore cette étude.

Les prélèvements de liquide d'ascite que nous avons étudiés ont deux types différents de provenance. En effet, si le but est toujours d'obtenir un avis diagnostique sur l'échantillon, par contre il faut distinguer deux orientations différentes prises selon les cliniciens; soit l'examen est fait à titre systématique sur toutes les ascites quelle que soit leur étiologie, soit l'examen n'est demandé que s'il existe une suspicion de malignité.

Pour une grande partie des prélèvements, il s'agit de malades hospitalisés dans le service d'hépto-gastroentérologie du Professeur Agrégé H. FRAISSE (pavillon 5, CHU de Saint-Etienne). Ces malades subissent dès l'entrée, à titre systématique, une ponction d'ascite exploratrice ; un échantillon est adressé au laboratoire de cytogénétique, un autre échantillon étant parallèlement destiné au laboratoire de cytologie. Les examens biologiques seront effectués en double aveugle, c'est à dire sans connaître l'orientation clinique du diagnostic, afin d'éliminer tout élément subjectif.

Les autres prélèvements proviennent de différents services du CHU de Saint-Etienne et de quelques uns des hôpitaux et cliniques proches.

Nos remerciements vont à Messieurs les professeurs RIFFAT (2 cas), CUILLERET (4 cas), LA SELVE (1 cas), MELEY (2 cas), POTTON (14 cas), VERNEYRE (4 cas) et à messieurs les docteurs BAYLE (30 cas), BERARD (9 cas), COLLARD (6 cas), FAYARD (1 cas), FULCHIRON (3 cas), et REVIL (3 cas) qui ont bien voulu nous confier leurs dossiers.

Les prélèvements provenant de ces services sont sélectionnés parmi les malades pour lesquels il existe une suspicion de malignité et l'examen n'est pas demandé pour les ascites de nature bénigne certaine ; la répartition des ascites malignes et bénignes n'est donc pas dans ce deuxième groupe représentatif de la réalité.

2 - TECHNIQUES DE PRELEVEMENT :

Elles sont très précises et la plupart des échecs sont liés à l'inobservance de ces impératifs.

2 - 1 - Horaire :

Le liquide d'épanchement fait l'objet d'un examen direct, sans culture préalable. Les différents temps des manipulations s'étalent sur quatre heures environ. Le matériel cellulaire doit être traité dès réception; il ne peut pas être conservé vingt-quatre heures. Il en découle que le prélèvement doit parvenir au laboratoire avant midi.

2 - 2 - Prélèvement :

Au lit du malade, dans les conditions d'aseptie habituelles, on prélève 30 à 100 millilitres de liquide, de préférence en fin de ponction (en cas de ponction évacuatrice) la richesse en cellules étant plus importante.

Le liquide est recueilli dans un flacon, en verre ou en plastique atoxique, contenant de l'héparine à raison de 5000 Unités Internationales pour 100 millilitres de liquide prélevé. Bien agiter pour éviter la formation d'un caillot qui rendrait l'examen impossible.

2 - 3 - Transport au laboratoire :

La qualité de tout examen cellulaire cytologique ou cytogénétique est liée à la brièveté du délai qui sépare la ponction des techniques de laboratoire. L'échantillon du liquide doit donc parvenir dans l'heure qui suit la ponction.

Les conditions d'horaire et de transport se trouvent parfaitement remplies quand le laboratoire est situé dans le centre hospitalier ce qui permet une bonne coordination des opérations.

3 - TECHNIQUES DE CYTOGENETIQUE :

Le matériel à étudier étant une suspension cellulaire, on applique donc les techniques de cytogénétique classiques dérivées de la technique de MOORHEAD (cf. Schéma n° 3).

3 - 1 - Blocage des mitoses :

Le liquide dès son arrivée au laboratoire est soumis à l'action bloquante de la colchicine à la dose de 2 microgrammes par millilitre de liquide prélevé. Le mélange reste en incubation 90 minutes à 37 degrés Celsius.

Le liquide est alors transvasé dans des tubes coniques préalablement siliconés.

On centrifuge 10 minutes à 800 tours par minute, on évacue le surnageant à la pipette.

3 - 2 - Choc hypotonique :

Le culot est remis en suspension dans 10 millilitres de solution hypotonique. On utilise préférentiellement le chlorure de potassium à 0,55 %.

On place les tubes à l'étuve à 37 degrés pendant 12 minutes.

Le choc hypotonique, très délicat, doit être adapté au culot cellulaire. Un liquide hémorragique doit subir un premier choc hypotonique ; l'éclatement des globules rouges, libérant les ions sodium, rend le milieu isotonique ; on refait donc une seconde centrifugation courte et lente puis on fait agir la solution hypotonique avec le temps habituel d'éclatement de 12 minutes.

3 - 3 - Fixation :

On fait 2 fixations successives avec du liquide de Carnoy (Alcool - Acétique : 3/1). Chaque fixation dure 30 minutes et se fait au réfrigérateur à + 4 degrés centigrades.

On centrifuge 5 minutes et on évacue le surnageant à la pipette.

3 - 4 - Étalement :

Les lames utilisées doivent être rigoureusement propres ; on utilise soit des lames prélavées et essuyées soigneusement, soit des lames courantes qui ont baigné 24 heures dans du sulfo-chromate de potassium et ont été rincées avec soin.

Les lames sont ensuite réparties entre deux béciers contenant l'un de l'alcool à 20 %, l'autre de l'eau distillée, et placés au réfrigérateur.

Le culot de centrifugation ayant été remis en suspension dans quelques gouttes de liquide de Carnoy frais (la quantité de Carnoy rajouté dépend de la richesse cellulaire), on prélève à la pipette Pasteur la valeur de 3 gouttes qu'on laisse tomber sur les lames froides et humides. La tension superficielle réalise un étalement spontané.

On obtient 2 lots d'étalements ; les étalements fait sur les lames alcoolisées sont flambés au bec bunsen, puis directement colorés au Giemsa ; ils permettront dans la majorité des cas de faire un diagnostic valable de bénignité ou de malignité. Pour le deuxième lot, on utilise les lames trempées dans l'eau distillée ; ces lames ne seront pas flambées mais séchées à l'air chaud et conservées pendant une semaine ; elles seront alors propres à subir les techniques de dénaturation.

3 - 5 - Techniques de dénaturation :

Ces techniques sont nécessaires pour confirmer le diagnostic lorsque l'aneuploïdie n'a pas été constatée sur les lames flambées et qu'on n'a pas trouvé d'anomalie de structure évidente . C'est le banding qui permet ainsi de détecter les pseudodiploïdies et de préciser un diagnostic.

Nous essayons préférentiellement la dénaturation thermique ménagée (DUTRILLAUX - CARPENTIER : bandes R), les techniques de dénaturation par la trypsine (GROUCHY, DUTRILLAUX).

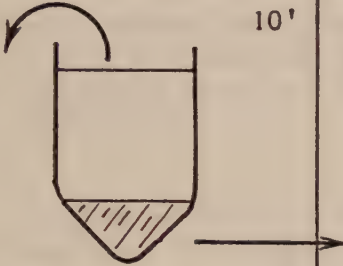
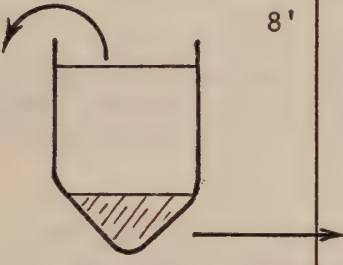
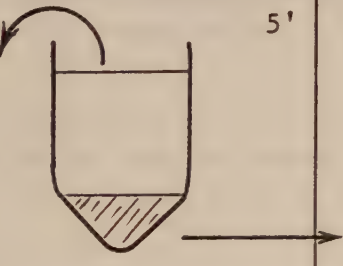
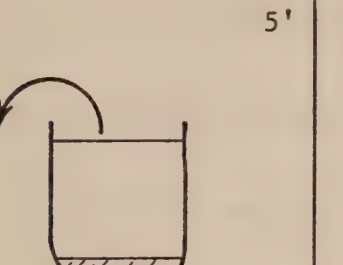
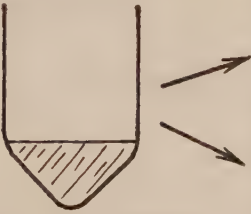
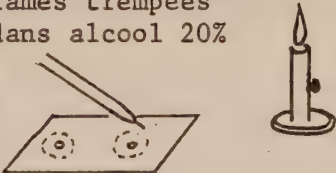
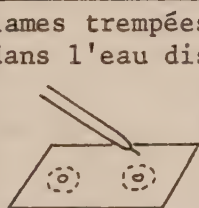
CENTRIFUGATION 800 Tours/minutes		TEMPERATURE TEMPS
	+ Colchicine : 2 $\mu\text{g/ml}$ de liquide prélevé	+ 37° 30' 
 10'	+ K Cl à 0,55 % 10 ml solution hypotoni- que	+ 37° 12' 
 8'	+ liquide de Carnoy glacé 10 ml 1ère Fixation	+ 4° 30' 
 5'	+ liquide de Carnoy glacé 10 ml 2ème Fixation	+ 4° 30' 
 5'	+ liquide de Carnoy glacé  quelques gouttes remise en suspension	lames trempées Flambées dans alcool 20%  lames trempées dans l'eau distillée séchage à l'air chaud 

Schéma n° 3

4 - OBSERVATION DES LAMES :

De même que le cytologiste, le cytogénéticien procède en deux étapes : la première, observation au petit grossissement pour avoir une vue d'ensemble ; puis observation au fort grossissement pour une étude plus détaillée.

4 - 1 - Observation au petit grossissement (objectif X 10) :

Les préparations obtenues sont réduites aux seuls noyaux ; le choc hypotonique a fait disparaître les globules rouges et le cytoplasme des différentes cellules : cellules mésothéliales, lymphocytes, polynucléaires et, en général, cellules néoplasiques.

Il peut arriver que des amas cellulaires organisés gardent leurs limites cytoplasmiques. Il s'agit presque toujours de plages cohérentes des cellules malignes.

Dans certains cas correspondant en cytologie aux classes IV et V de PAPANICOLAOU (présence de cellules d'aspect néoplasique évident) les seuls critères nucléaires suffisent à établir le diagnostic.

Dans un second temps, on recherchera les mitoses en métaphase afin de disposer des critères chromosomiques. Les hyperploïdies majeures sont dès ce stade facilement repérables et, associées aux dysmorphies nucléaires, confortent le diagnostic de malignité.

Mais tous les cas ne sont pas aussi simples et nécessitent une étude plus précise et donc un examen en immersion (objectif X 100).

4 - 2 - Observation au fort grossissement (objectif X 100) :

4-2-1- Cas des mitoses en apparence diploïdes :

Le problème est celui de la pseudodiploïdie et une grande prudence s'impose.

Les mitoses à 46 chromosomes sans anomalie de structure évidente (techniques standards) peuvent être considérées temporairement comme normales. L'examen des noyaux en interphase qui accompagnent les mitoses, l'aspect général de la

lame, ont une valeur diagnostique non négligeable. Les conclusions seront celles de la bénignité dans la plupart des cas.

Mais, dès que l'aspect nucléaire sera modifié, on devra étudier soigneusement le caryotype des mitoses photographiées et soumettre une ou plusieurs lames du lot non flambé à des épreuves de dénaturation. Seul le banding permettra de détecter des remaniements de structure non repérables par les techniques standards.

4-2-2- Cas des mitoses hypoploïdes :

L'hypoploïdie peut dans quelques cas être un critère de malignité, mais le caryotype ici demande à être contrôlé. Une perte de chromosome au hasard est toujours possible au cours des différentes phases de la technique, en particulier au moment du choc hypotonique ; on doit se méfier d'un artéfact et contrôler un nombre de mitoses convenable.

On ne retiendra la malignité probable qu'en présence de pertes sélectives d'un élément défini ou encore lorsqu'un ou plusieurs éléments seront porteurs d'une anomalie de structure. Les techniques de banding sont encore là nécessaires.

4-2-3- Cas des mitoses hyperploïdes :

Deux cas peuvent se présenter :

- Une hyperploïdie proche de la diploïdie, 47 - 48 chromosomes sans anomalie de structure évidente, n'est pas rare. On peut également rencontrer des mitoses dont le nombre de chromosomes se rapproche de la tétraploïdie (autour de 92 chromosomes). Si la majorité des cellules est aneuploïde, le diagnostic est d'ores et déjà en faveur de la malignité.

Par contre, un évènement isolé pose des problèmes d'interprétation : les erreurs de distribution au cours de certains états inflammatoires aigus ne sont pas exceptionnelles ; dans ce cas particulier, le contexte nucléaire garde toute son importance.

Il est plus prudent, en cas de doute, dans ce cas, de contrôler les caryotypes sur documents photographiques.

- Cas des mitoses hyperploïdes majeures avec anomalies de structure évidentes. Cette catégorie répond au diagnostic absolu de malignité d'emblée. La constatation se fait dès la lecture de la première mitose. Le repérage de ces 2 types d'anomalies est aisé pour un observateur modérément entraîné. Les anomalies de structure de type marqueur se repèrent le plus souvent grâce à la seule technique standard. Il n'est pas nécessaire de contrôler la classification exacte des chromosomes pour affirmer le diagnostic.

La réponse peut être adressée au clinicien le jour même du prélèvement.

5 - LIMITES DE L'EXAMEN CYTOGENETIQUE :

Si on élimine les échecs techniques rares mais possibles et qui aboutissent à la demande d'un nouvel échantillon de liquide, il n'est pas exceptionnel d'avoir affaire à un étalement sans mitose (dans notre étude, 80 % des ascites bénignes, 35 % des ascites malignes). Est-ce à dire qu'on ne peut tirer aucune conclusion à partir du travail accompli.

L'expérience du laboratoire permet d'ouvrir un chapitre annexe sur les éléments diagnostiques basés sur l'observation des noyaux interphasiques.

ATKIN N.B. (2) (3) et d'autres expérimentateurs avaient proposé la mesure de la taille des noyaux qui rend compte de leur teneur en ADN soit par examen direct soit par spectrophotométrie. Les résultats obtenus sont fidèles mais grossiers ; l'approche de la polyploïdisation est possible si l'anomalie s'écarte de 10 % au moins de la normale (diploïdie) avec une exactitude de mesure de 4 %. Une autre limite de ce procédé réside dans le fait qu'il ne distingue pas les tri ou tétraploïdies vraies qu'on peut rencontrer dans certains états inflammatoires avec répartition harmonieuse des chromosomes en triple ou quadruple exemplaire, des hyperploïdies proches de 69 ou 92 chromosomes, anormales par la distribution des chromosomes et par leur morphologie.

Une approche plus fine est possible grâce aux techniques de cytogénétiques appliquées au noyau (choc hypotonique) provoquant des artéfacts qui sont contrôlables et reproductibles grâce à la rigueur des techniques. Le gonflement et l'expansion nucléaires mettent particulièrement en valeur les dysmorphies des noyaux des cellules néoplasiques : modifications de la chromatine, nucléoles bien visibles mais surtout variations de la chromatophilie plus subtiles qu'avec les techniques de cytologie courantes.

Les techniques de cytogénétique apportent un autre élément : les cellules normales d'épanchement bénin sont éparpillées lors des manipulations alors que l'on peut observer des placards organisés dans les épanchements malins, les cellules néoplasiques gardant leur agencement et se présentant en amas non dissociés.

Dans ce cadre des examens où aucune mitose n'a été repérée, on se refu-

sera à adopter comme type de réponse. "critères absolus de malignité", cette formule sera réservée aux critères chromosomiques. Lorsque l'examen des noyaux ne laisse aucun doute sur leur origine néoplasique, la réponse sera "absence de mitose, présence de noyaux de type néoplasique".

D'autre part nous nous devons de signaler deux cas particuliers :

a) Le culot de centrifugation important a permis de faire des étalements de bonne qualité ; mais l'on se trouve en présence d'une population quasi-homogène de polynucléaires, associés à des éléments altérés non reconnaissables ; les amas de fibrine rendent la lecture difficile ; il s'agit en général de liquides septiques.

Il est de règle de ne pas trouver de mitose ; en pareille circonstance, notre examen n'est pas d'un apport valable pour le clinicien. Les phénomènes accompagnant des réactions septiques intenses peuvent dissimuler des éléments néoplasiques. La réponse est, dans ce cas, une réponse réservée "on ne peut conclure".

b) Enfin il existe des liquides d'épanchement pratiquement acellulaires ; bien que la quantité apportée au laboratoire soit convenable (50 millilitres), le culot de centrifugation est dérisoire et les champs sont optiquement vides ; quelques rares noyaux de type lymphocytaire confirment que la technique est valable.

L'absence de mitose n'est pas surprenante. Notre réponse est "liquide acellulaire".

L'expérience montre que ce type de préparation est surtout obtenu dans le cadre des ascites par cirrhose éthylique.

On ne saurait clore ce chapitre sans signaler les possibilités d'artéfacts liés à une modification du matériel cellulaire en dehors des phénomènes de carcinologie.

a) Les traitements chimiothérapiques peuvent entraîner des altérations chromosomiques de type cassure, lacune et même pulvérisation ; parfois ils sont responsables d'un appauvrissement considérable des éléments cellulaires dans le liquide d'épanchement. Les préparations obtenues à partir de tels échantillons sont ininterprétables.

b) Les infections virales peuvent créer des artéfacts : multiplications cellulaires inhabituelles avec erreurs de division, polyploïdisations et parfois pulvérisations des chromosomes au niveau de certaines cellules. Cette éventualité est rare dans le cadre des ascites mais n'est pas exceptionnelle dans le cadre des épanchements pleuraux.

c) Plus délicats à formuler sont les résultats concernant un groupe de malades ayant des antécédents de néoplasme qui ont été traités par radiothérapie ; les radiations ionisantes induisent des anomalies chromosomiques réparties au hasard, mais qui sont parfois compatibles avec une survie cellulaire. On peut retrouver dans un épanchement des cellules comportant soit un ou deux anneaux soit un chromosome dicentrique, associés ou non à des anomalies de nombre ; un examen soigneux de la lame, la recherche des noyaux dysmorphiques, la prudence enfin restent très nécessaires. On doit retenir cependant que les anomalies induites par des radiations sont des anomalies distribuées au hasard. On ne retrouve donc pas une population d'allure clonale comme dans un processus néoplasique.

C H A P I T R E V

COMPTÉ-RENDU DES OBSERVATIONS

Entre les années 1970 et 1976, 348 malades porteurs d'une ascite ont fait l'objet d'un examen du liquide d'épanchement par les techniques de cytogénétique.

Nous avons dû éliminer 16 dossiers, car les échantillons d'ascite n'ont pas pu fournir d'éléments utilisables en cytogénétique pour préciser le diagnostic. Cette défection a été liée à trois facteurs différents :

- Technique de prélèvement défectueuse : la qualité des résultats dépend du soin avec lequel est fait le prélèvement ; l'inobservance des impératifs suivants amène à une impossibilité de fournir un diagnostic, ainsi qu'il est arrivé dans 6 cas :

- volume du prélèvement insuffisant,
- proportion d'héparine non respectée en excès ou en défaut,
- délai d'apport au laboratoire prolongé.

- Technique de laboratoire imparfaite, erreurs de manipulations, ces techniques nécessitant beaucoup de soin, de précision et d'habitude (5 cas).

- La nature de l'échantillon rend impossible l'interprétation ; soit il s'agit d'ascites infectées, les éléments sont altérés et les polynucléaires en très grand nombre gênent l'observation ; soit il s'agit d'ascites chyleuses, les éléments bénins ou malins peuvent être masqués par les chylomicrons. Dans ces cas , nous nous refusons à conclure et demandons un nouvel échantillon.

Nous isolerons 32 malades qui feront l'objet d'un paragraphe particulier à la fin de ce chapitre ; l'échantillon a fourni des éléments d'appréciation de bonne qualité et une conclusion cytogénétique est possible, mais le diagnostic clinique n'a été qu'un diagnostic de présomption : le clinicien ne peut se baser que sur un contexte clinique ou biologique, quelquefois évocateur d'ailleurs, mais il n'y a pas de preuve objective permettant d'affirmer le diagnostic avec certitude.

Il reste donc 300 dossiers exploitables objectivement ; le clinicien a pu établir sans discussion la nature maligne ou non de l'épanchement par les moyens dont il dispose : clinique, biologie (alpha-foeto-protéine), endoscopie, chirurgie, anatomopathologie macroscopique et histologique ainsi que les moyens d'observation indirecte (scintigraphie, artériographie) ; la qualité de l'étalement traité selon les techniques de cytogénétique permet une observation valable pour qu'un avis puisse être donné.

La confrontation des résultats de cytologie avec la cytogénétique et l'étiologie a pu être établie dans 278 cas.

Nous envisagerons successivement :

- les résultats cytogénétiques obtenus dans les ascites cliniquement et biologiquement bénignes avec confrontation des données cytologiques ;

- puis les résultats obtenus dans le cadre des ascites malignes ;

- enfin nous examinerons les dossiers des 32 malades pour lesquels un diagnostic clinique n'a pas pu être fourni avec précision.

I - ETUDE DES ASCITES BENIGNES :

Il s'agit de 196 malades.

Ils se répartissent en 147 hommes et 49 femmes.

L'étiologie est dans la grande majorité des cas une sclérose hépatique, le plus souvent d'origine éthylique : 184 cas, dont 140 hommes et 44 femmes. L'âge le plus fréquent de la décompensation de cette cirrhose est variable, s'échelonnant essentiellement entre 40 et 70 ans, quelque soit le sexe ; cependant l'âge de la décompensation chez l'homme est plus bas ; le pourcentage d'hommes entre 40 et 60 ans est de 56 % contre 36 % dans le sexe féminin. Par contre il est à noter la plus grande proportion de décompensation de cirrhoses féminines vers 30 ans (11 % contre 2 % de masculines). (cf. histogramme des âges - schéma n° 4).

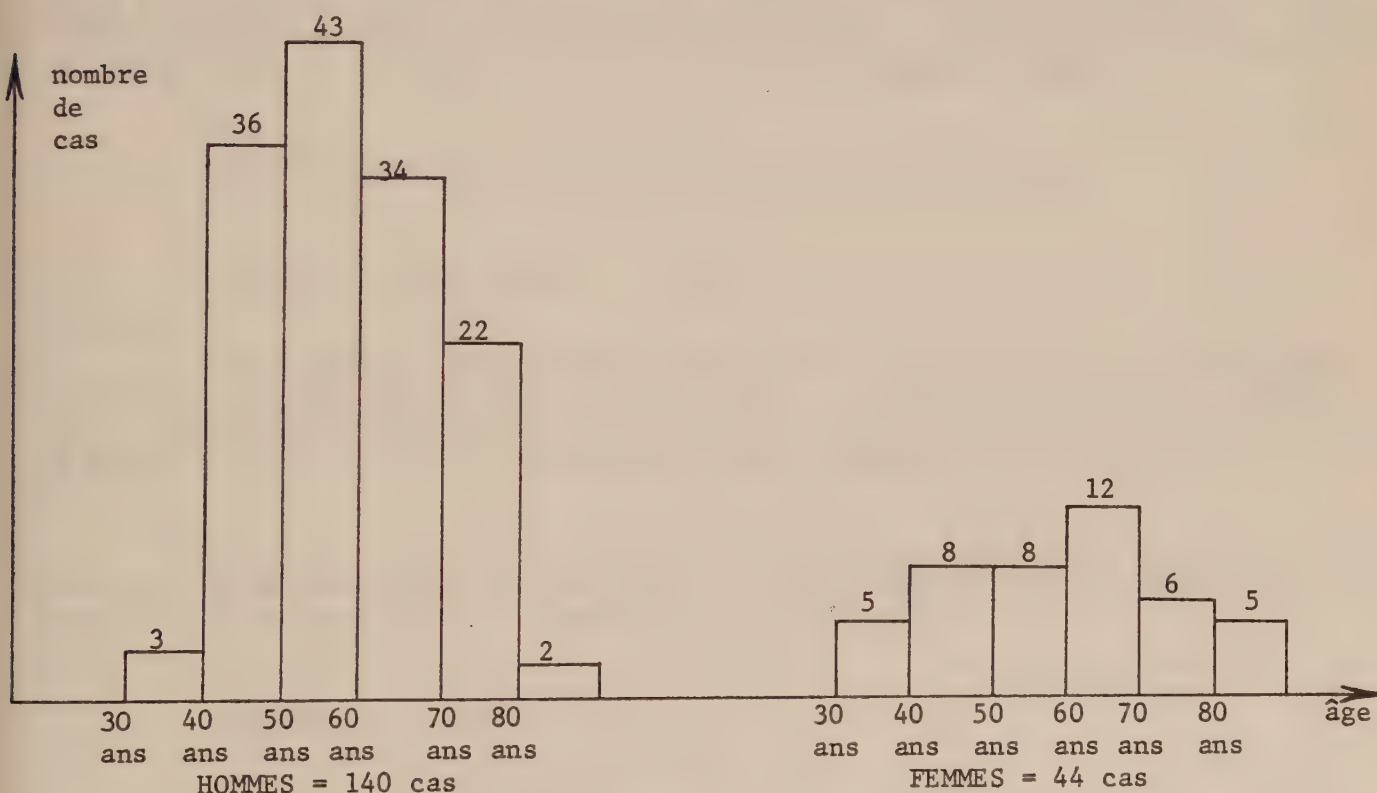


Schéma n° 4

Age de survenue de la décompensation oedémato-ascitique de la cirrhose selon le sexe dans notre série portant sur 184 cas

Plus rarement il s'agit d'une autre étiologie (12 cas) :

- tuberculose péritonéale	:	4
- tumeur bénigne de l'ovaire	:	2
- pancréatite chronique	:	1
- insuffisance cardiaque	:	1
- splénomégalie myéloïde	:	1
- panhypopituitarisme	:	1
- polykystose hépato-rénale	:	1
- origine indéterminée	:	1
		12

I - 1 - Etude cytogénétique :

Dans le cadre des ascites bénignes, il existe un facteur commun : les mitoses sont soit totalement absentes (72 % des cas), soit elles sont présentes mais en nombre extrêmement réduit (19,3% ; dans un nombre non négligeable de cas (8,7% les éléments figurés font pratiquement défaut (liquides acellulaires). L'examen cytogénétique dans le cadre des ascites bénignes sera donc le plus souvent un examen réduit à la seule observation des noyaux interphasiques.

Les résultats que nous avons obtenus sont les suivants :

- Liquides acellulaires : 17 cas soit 8,7 %

Par commodité, nous appelons "acellulaire" des liquides où la pauvreté en éléments figurés est extrême et ne peut servir de base à un diagnostic. Dans ces 17 cas, la centrifugation n'a donc fourni qu'un nombre extrêmement réduit d'éléments, la quantité et la qualité du prélèvement étant cependant convenable.

En pareil cas, nous nous refusons à donner une conclusion car nous verrons dans un prochain chapitre que, lors de l'étude des ascites malignes, nous avons trouvé un taux de 5 % d'étalements acellulaires.

- Absence de mitose : 141 cas soit 72 %

Le matériel chromosomique fait ici totalement défaut, mais comme nous l'avons souligné dans le chapitre "méthodologie", l'examen des noyaux interphasiques apporte une information non négligeable.

Les étalements sont le plus souvent du type mixte des cirrhoses : noyaux de lymphocytes, (le plus souvent de deux types soit petits lymphocytes soit lymphocytes activés), noyaux de cellules mésothéliales de taille importante souvent plurinucléolés toujours libres, les techniques ayant fait disparaître le cytoplasme et sa membrane, enfin un contingent réduit de noyaux de polynucléaires.

Dans le cadre des ascites tuberculeuses (4 cas), les noyaux sont extrêmement abondants et de type lymphocytaire ; les liquides sont riches en fibrine et retiennent parfois les noyaux dans les mailles de fibrine ; l'aspect est très évocateur d'une infection tuberculeuse.

Il n'a jamais été retrouvé de noyaux dysmorphiques. Dans 4 cas cependant, la taille des noyaux, leur richesse en nucléoles nous ont fait porter un diagnostic réservé ; dans l'un des 4 cas, il y a une importante prolifération de polynucléaires et nous avons signalé dès le début de notre exposé les difficultés que nous rencontrons quand les liquides sont riches en polynucléaires ; on trouve parfois de grands noyaux qui peuvent être les témoins d'une lyse cellulaire, mais que nous classons néanmoins dans les cas suspects, un nouvel examen est nécessaire. Dans les 3 autres cas, nous avons trouvé des noyaux de grande taille mais à contours réguliers que nous avons catalogués parmi les noyaux suspects ; mais, en aucun cas, l'aspect de ces noyaux n'est dysmorphique ; dans ces 4 cas, le diagnostic clinique de bénignité est formel.

- Présence de mitoses : 38 cas soit 19,3 %

Les mitoses sont d'une extrême rareté : 2 à 3 mitoses sur un étalement. Dans 20 cas, les mitoses sont diploïdes normales ; dans 10 cas, elles sont hypoploïdes ; dans 8 cas, elles sont hyperploïdes.

En aucun cas nous n'avons trouvé d'anomalies de structure dans ces mitoses (techniques standards). Les aneuploïdies commandent cependant la prudence : l'hypoploïdie peut être liée à un artéfact (perte de chromosomes au hasard lors du choc hypotonique). L'hyperploïdie doit être contrôlée par un caryotype ; il s'agit en général de mitoses tétraploïdes ou voisines de la tétraploïdie traduisant un simple trouble de la division mitotique au cours d'un processus inflammatoire.

La rareté des mitoses nous invite à examiner soigneusement les noyaux interphasiques qui peuvent parfois avoir un aspect inhabituel. Ainsi dans 7 cas sur 38 cas où les mitoses sont observées, l'aspect nucléaire nous a fait porter un pronostic réservé ; dans 2 de ces cas, la cytologie est suspecte elle aussi (classe III) , mais les 5 autres malades ont une cytologie classe I.

Les conclusions données au clinicien ont donc été les suivantes (tableau n° 1) :

Conclusions en cytogénétique	nombre de cas	pourcentage
en faveur de la bénignité absence d'anoma- lies	168	85,7 %
présence d'éléments suspects nécessitant un contrôle	11	5,6 %
liquides acellulaires, donc absence de conclusion	17	8,7 %
	—	—
	196	100 %

Tableau n  1

Aucun faux-positif n'est à déplorer

1 - 2 - Résultats en cytologie :

La comparaison avec la cytologie n'est possible que dans 175 cas. Les résultats en cytologie sont les suivants :

En cytologie également, aucun faux-positif n'est à déplorer.

Il n'est pas possible de conclure 2 fois car le liquide est trop pauvre en éléments figurés et une fois car le prélèvement est parvenu au laboratoire avec 24 heures de retard et que les éléments ont été altérés pendant l'attente. (Tableau n  2).

Conclusions en cytologie	nombre de cas	pourcentage
bénignité = classe I	150	85,7 %
suspect = classe III	22	12,6 %
absence de conclusion	3	1,7 %
	—	—
	175	100 %

Tableau n  2

La comparaison des conclusions des deux méthodes est possible dans 175 cas ; les résultats que nous avons obtenus sont représentés dans le tableau suivant : (tableau n° 3).

cytologie cytogénétique	Classe I	classe III	absence de conclusion	total
absence d'anomalie	132	14	2	148
présence d'éléments suspects	7	3	1	11
liquides acellulaires	11	5	-	16
Total	150	22	3	175

Tableau n° 3

132 cas sont concordants dans le sens de la bénignité, absence d'anomalie en cytogénétique et frottis classe I ; il s'agit de :

126 cirrhoses,
 2 tuberculoses péritonéales,
 2 tumeurs bénignes de l'ovaire,
 1 splénomégalie myéloïde,
 1 panhypopituitarisme.

Dans 21 cas, les résultats en cytogénétique et en cytologie sont discordants :

14 fois, cytogénétique en faveur de la bénignité et frottis classe III ; ce sont 14 cas de cirrhose.

7 fois, présence d'éléments suspects en cytogénétique et frottis classe I ; ce sont 5 cas de cirrhose, 1 cas de tuberculose péritonéale et 1 cas de pancréatite chronique.

En conclusion, dans notre population témoin, comportant 196 malades, dans 17 cas nous ne nous sommes pas permis de donner une conclusion à notre examen car il s'agit de liquides extrêmement pauvres en éléments figurés ; parmi ces 17 cas, les frottis examinés en cytologie ont été classés 5 fois suspects et 11 fois bénins. Nous avons pu affirmer la bénignité dans 168 cas, soit dans 85,7 % des cas. Nous avons fait des réserves dans 11 cas sur des critères nucléaires, les noyaux n'étant pas dysmorphiques mais inhabituels par leur taille et leur nucléoles ; il s'agit vraisemblablement de noyaux de cellules mésothéliales irritées.

Dans un chapitre ultérieur, nous confronterons et discuterons les données cliniques et biologiques des ascites bénignes avec les résultats cytogénétiques et cytologiques.

2 - ETUDE DES ASCITES MALIGNES :

Il s'agit de 104 malades.

Ils se répartissent en 52 hommes et 52 femmes.

La majorité d'entre eux ont plus de 50 ans ; une étude des âges dans notre série ne serait pas valable puisque celle-ci comporte des néoplasies d'étiologie variable et en sélectionne certaines ; ainsi sur 52 femmes, 29 sont porteuses d'un cancer de l'ovaire dont l'âge moyen est situé entre 55 et 75 ans.

Les étiologies sont les suivantes :

- cancers génitaux	:	34
- cancers primitifs du foie	:	30
- cancers du tube digestif et de ses glandes annexes	:	27
- origine diverse	:	13

Chez l'homme : 52 cas

- cancers primitifs du foie	:	27 cas
. hépatomes greffés sur cirrhose	:	22 cas
. cancers primitifs sans cirrhose	:	5 cas
- cancers du tube digestif et de ses glandes annexe	:	18 cas
. estomac	:	8 cas
. recto-colon	:	4 cas
. pancréas	:	3 cas
. vésicule et voies biliaires	:	3 cas
- origine diverse	:	7 cas
. mésothéliome péritonéal	:	3 cas
. maladie de Waldenstrom	:	1 cas
. rein	:	2 cas
. cancer secondaire du foie à un cancer du larynx probable	:	1 cas

Chez la femme : 52 cas

- cancers génitaux :	34 cas
. ovaire	: 29 cas
. col utérin	: 1 cas
. corps utérin	: 1 cas
. sein	: 3 cas
- cancers primitifs du foie :	3 cas
. hépatome greffé sur cirrhose:	3 cas
- cancers du tube digestif et de ses glandes annexes	9 cas
. recto-colon	: 3 cas
. pancréas	: 4 cas
. vésicule et voies biliaires :	2 cas
- origine diverse	6 cas
. mésothéliome péritonéal	: 1 cas
. cancer secondaire du foie à un probable cancer bronchique	1 cas
. carcinose péritonéale d'origine indéterminée	: 4 cas

a) ETUDE CYTOGENETIQUE - DONNEES GENERALES :

Les ascites malignes à l'inverse des ascites bénignes sont très généralement riches en mitoses.

Les mitoses sont présentes dans 68 cas (65,4 %) ; leur nombre est très variable selon le malade considéré indépendamment de l'étiologie du néoplasme d'origine ; cependant on peut admettre que dans les cancers de l'ovaire, les cancers primitifs du foie sans cirrhose et les mésothéliomes, le matériel chromosomique est pratiquement toujours présent, le groupe des hépatomes greffés sur cirrhose se distingue au contraire par la discrétion de son expression.

Dans 31 cas soit 30 % des ascites néoplasiques examinées, nous n'avons pas trouvé de mitose ; les étiologies sont très variées.

Dans tous ces cas, soit 95,4 %, les noyaux interphasiques sont toujours

présents associés ou non à des mitoses et il en a été toujours tenu compte dans la réponse donnée au clinicien.

Enfin, 4,6 % des échantillons examinés (5 cas) sont si pauvres en éléments figurés que nous les avons classés dans la rubrique "acellulaire" et que nous les avons déclarés ininterprétables. Il faut rappeler ici que, dans le cadre des ascites bénignes, 8,7 % des étalements sont acellulaires et que nous avons toujours refusé de donner une conclusion à notre examen dans cette éventualité.

6). Les tableaux suivants résument nos résultats : (Tableaux n° 4, 5 et

Etiologie	nombre total de cas dans notre série	nombre de cas où les mitoses sont présentes
ovaire	29	26
corps utérin	1	1
sein	3	1
hépatomes/cirrhose	25	8
C. primitif du foie	5	5
estomac	8	6
recto-colon	7	3
pancréas	7	4
C. biliaire	5	3
mésothéliome	4	4
waldenstrom	1	1
rein	2	1
cancer du foie secondaire	2	1
carcinose péritonéale	4	4
		—
		68

Présence de données chromosomiques et étiologie

Tableau n° 4

Etiologie	nombre total de cas dans notre série	nombre de cas où les mitoses sont absentes
ovaire	29	3
col utérin	1	1
hépatome/cirrhose	25	16
estomac	8	2
recto-colon	7	4
pancréas	7	1
cancer biliaire	5	2
rein	2	1
cancer secondaire du foie	2	1
		31

Tableau n° 5

Données nucléaires isolées et étiologie

étiologie	nombre total de cas dans notre série	nombre de cas où les étalements sont acellulaires
sein	3	2
pancréas	7	2
hépatome/cirrhose	25	1
		5

Tableau n° 6

Absence de toute donnée et étiologie

b) ETUDE CYTOGENETIQUE PAR APPAREIL

b)1 - APPAREIL GENITAL :

b)1-1- Ovaire = 29 cas

- Présence de mitoses : 26 cas
 - noyaux interphasiques seuls : 3 cas

b)1-1-1 - Etude des mitoses : 26 cas

Dans la quasi-totalité des cas, il existe une grande dispersion du nombre des chromosomes allant d'une hypoploïdie majeure (18 chromosomes) à une hyperploïdie majeure (200, 300 et même 500 chromosomes dans une seule mitose). L'hyperploïdie majeure caractérise 14 cas sur 26 (supérieure à 100 chromosomes ; elle est plus modérée dans les 12 autres cas. Nous n'avons jamais trouvé d'hypoploïdie isolée.

Le diagnostic de malignité est donc extrêmement aisé.

Les anomalies de structure sont également toujours présentes ; elles sont variables.

Ces anomalies de structure peuvent être des anomalies de la structure chromatidienne en général, la mitose a un aspect très particulier : les chromosomes sont enchevêtrés, les centromères semblent avoir disparu, la dés spiralisation chromatidienne est intense, prenant un aspect "frisé" ; ce sont les chromosomes "fuzzy" des auteurs anglo-saxons (Photo n° 3). Nous avons trouvé ce type d'anomalies dans les cancers ovariens en association avec des mitoses aneuploïdes 7 fois. Dans le cadre des mitoses fuzzy, une analyse numérique ou morphologique est impossible, l'appréciation numérique ne peut être que grossière. Cet aspect particulier est cependant très évocateur d'un processus néoplasique.

Les anomalies de structure peuvent être chromosomiques ; elles modifient considérablement la morphologie de certains éléments et peuvent donc être repérées en l'absence de techniques de banding. Les anomalies sont souvent personnalisées ; on retrouve sur le même étalement le même type d'anomalies qui peut être différent chez un autre malade ; il s'agit parfois d'un grand chromosome de la taille d'un chromosome du groupe A avec un centromère distal ; on trouve aussi très fréquemment de petits chromosomes cruciformes de la taille des chromosomes du groupe F.

Cependant c'est dans le cadre du cancer de l'ovaire que la notion de marqueur spécifique a pu être évoquée : il s'agit d'un chromosome 5 ayant perdu la totalité de ses bras courts, il se présente donc comme un grand chromosome acrocentrique ; nous l'avons trouvé 16 fois sur 26 cas ; ce marqueur se retrouve fréquemment dupliqué chez certains malades.

b)1-1-2 - Etude des noyaux interphasiques :

Dans 3 cas, nous n'avons pas trouvé de mitose, mais la présence de noyaux hautement dysmorphiques permet dans 2 cas sur 3 d'affirmer la malignité de l'épanchement.

Nous avons même proposé un diagnostic d'origine sur le seul aspect nucléaire. En effet l'étude des lames de cancers de l'ovaire connus nous a permis d'étudier l'environnement nucléaire des mitoses anormales. Ces noyaux sont particulièrement caractéristiques par la couleur bleu turquoise de leur nucléole très souvent unique mais énorme et parfaitement délimité. Ils peuvent avoir une forme régulière ou présenter des bourgeonnements anarchiques et dans ce cas, cotoyant de très gros noyaux, on trouve des micronucléi et ceci peut expliquer la présence de mitoses très hypoploïdes associées à des mitoses hautement hyperploïdes.

On doit signaler ici la présence d'une formation très particulière que nous avons rencontrée : il s'agit de placards cellulaires organisés en forme de rosaces à centre sombre formé par des noyaux très rapprochés ; à la périphérie, ces noyaux s'espacent régulièrement, ils sont de teinte plus pâle et très souvent certains sont en mitose (Photo n° 2). Les différents temps de la technique, le choc hypotonique en particulier, ne sont pas parvenus à dissocier les éléments ; la cohésion membranaire semble être particulièrement solide. L'étude des mitoses trouvées dans ces structures organisées montrent qu'il s'agit de mitoses anormales.

b)1-1-3 - Résultats cytogénétiques et cytologiques (tableau n° 7)

conclusions	cytogénétique		cytologie	
malins	28	96,6 %	25	86,2 %
suspects	1	3,4 %	2	6,9 %
faux-négatifs	-	-	2	6,9 %
	29	100 %	29	100 %

Tableau n° 7

Résultats comparatifs (Tableau n° 8).

cytologie cytogénétique	malin classe IV	suspect classe III	faux-négatifs classe I
malins	25	1	2
suspects		1	

Tableau n° 8

b) 1-2- Sein = 3 cas

- Présence de mitoses : 1 cas
- liquides acellulaires : 2 cas

Dans un cas les mitoses sont aneuploïdes ; le nombre de chromosomes varie de 37 à 65. Des anomalies de structure sont présentes. L'environnement nucléaire est d'aspect malin.

Dans les 2 autres cas, le liquide étant acellulaire, nous n'avons pas pu donner de conclusion ; il est à signaler que le frottis en cytologie est "Classe I".

Résultats cytogénétiques et cytologiques comparatifs (tableau n° 9).

cytologie cytogénétique	malin classe IV	suspect classe III	faux-négatif classe I
malin	1	-	-
acellulaire absence de conclusion	-	-	2

Tableau n° 9

b) 1-3- Col utérin = 1 cas

Dans ce cas, les mitoses sont absentes. Les noyaux interphasiques ont un aspect malin.

Les frottis en cytologie sont classe III, suspects.

b) 1-4- Corps utérin : 1 cas

Dans ce cas, les mitoses sont nombreuses ; elles montrent une aneuploïdie de 16 à 82 chromosomes ; les anomalies de structure sont présentes et un grand marqueur médian de taille supérieure à un chromosome I peut être individualisé. Les noyaux dysmorphiques sont un critère complémentaire de la malignité de l'épanchement (Photo n° 1, 5 et 6).

Le frottis en cytologie est classe IV, malin.

TABEAU RECAPITULATIF DES RESULTATS POUR LES ASCITES MALIGNES D'ORIGINE GENITALE

étiologie	nombre de cas	conclusions	cytogénétique		cytologie	
ovaire	29	malin suspect faux-négatif	28 I -	96,6 % 3,4 % -	25 2 2	86,2 % 6,9 % 6,9 %
sein	3	malin acellulaire ininterprétable faux-négatif	1 2 -		1 - 2	
col utérin	1	malin suspect	1 -		- 1	
corps utérin	1	malin	1		1	

Tableau n° 10

b)2 - CANCERS PRIMITIFS DU FOIE :

La variété des hépatomes greffés sur cirrhose est la plus fréquente, 25 cas, au contraire des cancers primitifs sans cirrhose, 5 cas.

b)2-1- Hépatomes greffés sur cirrhose = 25 cas

- Présence de mitose : 8 cas
- noyaux interphasiques seuls : 16 cas
- acellulaire : 1 cas

b)2-1-1 - Etude des mitoses : 8 cas

- diploïdie : 1 cas
- hypoploïdie : 3 cas
- hyperploïdie : 4 cas

Dans 5 cas les anomalies chromosomiques sont discrètes : hyper ou hypodiploïdie ; les anomalies de structure se réduisent à un aspect fuzzy des chromosomes (3 cas) et à la présence d'un chromosome du groupe G qui semble plus court que la normale (1 cas). Dans un cas, diploïdie sans anomalie de structure décelable (techniques standards).

Dans 2 cas, nous avons trouvé des critères très différents : anomalies de nombre de type hyperploïdie majeure (110 à 150) associées à des anomalies chromatidiennes évidentes.

b)2-1-2 - Etude des noyaux interphasiques

Dans les 2 cas précités, les noyaux interphasiques sont hautement dysmorphiques.

Dans les 6 autres cas comportant des mitoses avec altérations discrètes, les noyaux interphasiques n'attirent pas d'emblée l'attention ; les lames sont relativement riches avec une réaction de type mésothéliale et lymphocytaire associée et seuls quelques noyaux hyperchromatophiles et richement nucléolés sont suspects de malignité.

Enfin dans 16 cas, nous n'avons pas trouvé de mitose. Dans un cas, en l'absence de critères chromosomiques, la malignité a pu être affirmée d'après l'aspect général de l'étalement : noyaux hyperchromatophiles et richement nucléolés de taille très modérée mais surtout groupés en amas réguliers, organisés, non dissociés par les techniques de cytogénétique, gardant leur atmosphère cytoplasmique.

Dans 2 cas, les noyaux sont suspects ; isolés, non groupés, ils présentent encore une chromatophilie exagérée et des nucléoles volumineux ; en l'absence de groupements organisés, nous n'avons pas voulu conclure à la malignité.

Dans 13 cas enfin, les lames sont relativement pauvres en éléments figurés ; certains sont altérés ; les cellules sont souvent emprisonnées dans un réseau de fibrine dont la présence gêne considérablement l'observation. Il n'a pas été retenu d'éléments suspects de malignité.

b)2-1-3 - Le dernier cas est un liquide acellulaire pour lequel nous nous sommes refusés à conclure. Il s'agit d'un malade pour lequel le diagnostic d'hépatome a été porté et qui vient de subir une cure de Fluoro-uracile (6,250 grammes au total).

b)2-1-4 - Résultats cytogénétiques et cytologiques (tableau n° 11).

conclusions	cytogénétique		cytologie	
malin	8	32 %	1	4 %
suspect	3	12 %	11	44 %
faux-négatif	13	52 %	13	52 %
acellulaire sans conclusion	1	4 %	-	-
	-----	-----	-----	-----
	25	100 %	25	100 %

Tableau n° 11

Résultats comparatifs (tableau n° 12).

cytologie cytogénétique	malins classe IV	suspect classe III	faux-négatif classe I
malin	1	6	1
suspect	-	2	1
faux-négatif	-	3	10
acellulaire ininterprétable	-	-	1

Tableau n° 12

b)2-2- Cancers primitifs du foie sans cirrhose = 5 cas

Dans tous les cas, nous avons trouvé des mitoses. Dans 4 cas, elles sont nombreuses ; dans un cas, les mitoses sont rares, avec un contingent très important de polynucléaires.

b)2-2-1 - Etude des mitoses :

Leur caractère commun en est l'hyperploïdie ; celle-ci est variable, modérée dans 4 cas (autour de 50 chromosomes dans 2 cas, autour de 70 dans les 2 autres cas), majeure de 150 à 200 chromosomes dans un cas.

Les anomalies de structure sont constantes, soit présence de mitoses fuzzy, soit présence d'anomalies chromosomiques reflétant un véritable bouleversement avec présence de fragments acentriques, changement d'indice centromérique appréciable sans nécessité de banding ; dans 2 cas, nous avons trouvé un grand chromosome marqueur télacentrique, parfois dupliqué dans une même mitose hyperploïde.

b)2-2-2 - Etude des noyaux interphasiques :

Dans les 5 cas, nous avons un étalement riche, mais de composition variable. Dans un cas, les noyaux anormaux sont rares, la population étant représentée en majeure partie par des cellules mésothéliales et des lymphocytes. Dans un second cas, la présence de polynucléaires et de fibrine rend l'examen plus difficile, mais les grands noyaux sont toujours présents. Enfin dans les 3 autres cas, il s'agit d'un envahissement complet par des noyaux de type néoplasique.

Dans les 5 cas, les noyaux ont des caractères communs ; ils sont de grande taille, généralement arrondis ou ovalaires, la chromatine est lâche, pâle, il existe des nucléoles volumineux ; dans aucun cas, nous n'avons trouvé d'organisation régulière, les noyaux sont dispersés. En l'absence de mitose, leur morphologie serait suffisante pour affirmer un processus malin.

b)2-2-3 - Résultats cytogénétiques et cytologiques comparatifs (tableau n° 13).

conclusions	cytogénétique		cytologie	
malin	5	100 %	3	60 %
suspect	-	-	1	20 %
faux-négatif	-	-	1	20 %

Tableau n° 13

b)3 - TUBE DIGESTIF ET GLANDES ANNEXES :

Les ascites néoplasiques d'origine digestive ont, dans notre série, pour point de départ :

- un cancer gastrique : 8 fois
- un cancer recto-colique : 7 fois
- un cancer pancréatique : 7 fois
- un cancer biliaire : 5 fois.

b)3-1- Estomac = 8 cas

- présence de mitoses : 6 cas
- noyaux interphasiques seuls : 2 cas.

b)3-1-1- Etude des mitoses : 6 cas

- hypoploïdie : 1 cas
- hyperploïdie : 5 cas.

Dans tous les cas où nous avons observé des mitoses, il existe une aneuploïdie associée à des anomalies de structure ; dans un cas : présence de chromosomes fuzzy ; dans 4 cas, il existe des chromosomes marqueurs de type grand acrocentrique, mais variables d'un sujet à l'autre.

b)3-1-2 - Etude des noyaux interphasiques :

Dans 7 cas sur 8, l'aspect des noyaux est évocateur d'un processus malign. Dans 5 cas sur 7, les noyaux sont remarquables par leur hyperchromatophilie et par leur organisation en plages régulières non dissociées. Dans 3 cas, dont l'un conserve le caractère d'hyperchromatophilie, les noyaux sont très différents, de taille gigantesque à bords irréguliers bourgeonnants ; dans 2 de ces cas, les noyaux sont associés à des mitoses très hyperploïdes (100 à 180 chromosomes).

b)3-1-2 - Résultats cytogénétiques et cytologiques (tableau n° 15).

conclusions	cytogénétique		cytologie	
malin	7	87,5 %	2	28,6 %
suspect	1	12,5 %	3	42,8 %
faux-négatif	-	-	2	28,6 %

Tableau n° 15

Dans un cas où en cytogénétique on trouve hyperploïdie, anomalies de structure et noyaux interphasiques d'aspect dysmorphique, l'examen cytologique n'a pas été pratiqué.

Résultats comparatifs (tableau n° 16).

cytologie cytogénétique	malin classe IV	suspect classe III	faux-négatif classe I	pas de cytologie
malin	2	2	2	1
suspect	-	1	-	-

Tableau n° 16

b)3-2- Recto-colon = 7 cas

- présence de mitoses : 3 cas
- noyaux interphasiques seuls : 4 cas

b)3-2-1 - Etude des mitoses : 3 cas

- hypoploïdie : 1 cas (épithélioma colloïde de l'appendice)
- hyperploïdie : 2 cas (un cancer colique et un cancer rectal)

Dans les 3 cas, les mitoses sont rares et très altérées ; l'appréciation de l'aneuploïdie est globale. Il existe des mitoses de type fuzzy.

L'environnement nucléaire a été ici très utile ; dans les 3 cas, les noyaux ont un aspect anormal et on note surtout leur arrangement particulier en plages organisées.

b)3-2-2 - Etude des noyaux interphasiques :

Dans 4 cas, nous n'avons pas retrouvé de mitose ; dans un cas, les noyaux de grande taille à chromatine lâche, isolés, évoquent un processus malin ; dans les 3 autres cas, nous n'avons pas trouvé de noyaux anormaux.

b)3-2-3 - Résultats cytogénétiques et cytologiques (tableau n° 17)

conclusions	cytogénétique		cytologie	
malin	4	57,2 %	2	28,5 %
suspect	-	-	1	14,3 %
faux-négatif	3	42,8 %	4	57,2 %

Tableau n° 17

Résultats comparatifs (tableau n° 18).

cytologie cytogénétique	malin classe IV	suspect classe III	faux-négatif classe I
malin	1	-	3
faux-négatif	1	1	1

Tableau n° 18

b)3-3- Pancréas = 7 Cas

- présence de mitoses : 4 cas
- noyaux interphasiques seuls : 1 cas
- acellulaire : 2 cas.

b)3-3-1 - Etude des mitoses : 4 cas

Il s'agit d'aneuploïdie très dispersée variant de 27 à 200 chromosomes ; cette variabilité se retrouve chez tous les malades : 27 à 200, 29 à 135, 72 à 180, plus de 200 chromosomes.

Les anomalies de structure sont de règle ; dans 2 cas, on a pu individualiser un marqueur (une fois de type Bq+) ; dans un cas, il s'agit de mitoses très hyperploïdes avec chromosomes fuzzy.

b)3-3-2 - Etude des noyaux interphasiques :

Dans la majorité des cas, les mitoses sont associées à des noyaux de grande taille à bords réguliers, arrondis, le plus souvent libres. Dans un cas, l'aspect nucléaire nous a permis d'affirmer la malignité en l'absence de mitoses.

b)3-3-3 - Résultats cytogénétiques et cytologiques (tableau n° 19).

conclusions	cytogénétique		cytologie	
malin	5	71,4 %	2	28,6 %
faux-négatif	-	-	5	71,4 %
acellulaire ininterprétable	2	28,6 %	-	-

Tableau n° 19

Résultats comparatifs (tableau n° 20).

cytologie cytogénétique	malin	faux-négatif
	classe IV	classe I
malin	2	3
ininterprétable	-	2

Tableau n° 20

b)3-4- Vésicule et voies biliaires = 5 cas

- présence de mitoses : 3 cas
- noyaux interphasiques seuls : 2 cas.

b)3-4-1 - Etude des mitoses : 3 cas

Il s'agit d'hyperploïdie dans les 3 cas ; celle-ci dans tous les cas est retrouvée autour de 50 - 60 chromosomes avec quelques mitoses autour de 100 chromosomes.

Dans 2 cas, des anomalies de structure sont retrouvées ; dans un cas, 2 types de marqueurs ont été individualisés, un pseudo B et un grand télocentrique.

b)3-4-2 - Etude des noyaux interphasiques :

Dans les 5 cas, le contexte nucléaire évoque la malignité ; les noyaux sont de grande taille, à contours réguliers, mais ils sont toujours groupés en plages non dissociées.

b)3-4-3 - Résultats cytogénétiques et cytologiques comparatifs (tableau n° 21)

conclusions	cytogénétique		cytologie	
malin	5	100 %	2	40 %
suspect	-	-	1	20 %
faux-négatif	-	-	2	40 %

Tableau n° 21

TABEAU RECAPITULATIF DES RESULTATS DES ASCITES MALIGNES D'ORIGINE DIGESTIVE

étiologie	nombre de cas	conclusions	cytogénétique		cytologie	
estomac	8	malin	7	87,5 %	2	28,6 %
		suspect	1	12,5 %	3	42,8 %
		faux-négatif	-	-	2	28,6 %
recto-colon	7	malin	4	57,2 %	2	28,6 %
		suspect	-	-	1	14,3 %
		faux-négatif	3	42,8 %	4	57,1 %
pancréas	7	malin	5	71,4 %	2	28,6 %
		faux-négatif	-	-	5	71,4 %
		acellulaire ininterprétable	2	28,6 %	-	-
appareil biliaire	5	malin	5	100 %	2	40 %
		suspect	-	-	1	20 %
		faux-négatif	-	-	2	40 %

Tableau n° 22

b)4 - ASCITES D'ORIGINE DIVERSE :

Il s'agit d'un mésothéliome péritonéal	: 4 fois
d'une maladie de Waldenstrom	: 1 fois
d'un cancer du rein	: 2 fois
d'un cancer du foie métastatique	
d'origine suspectée	: 2 fois
d'une carcinose péritonéale d'origine	
indéterminée	: 4 fois.

b)4-1- Mésothéliome péritonéal = 4 cas

- présence de mitoses : 3 cas
- noyaux interphasiques seuls : 1 cas.

Dans 3 cas, les critères chromosomiques ont permis de conclure à la malignité ; une hypoploïdie avec anomalies de structure et deux hyperploïdies majeures (Photo n° 7). Dans les 4 cas, les noyaux sont franchement dysmorphiques de grande taille, bourgeonnants et permettent à eux seuls de conclure à un processus malin.

Résultats en cytologie : frottis classe IV dans tous les cas.

b)4-2- Maladie de Waldenstrom = 1 cas

Chez un malade atteint d'un syndrome de macroglobulinémie de Waldenstrom avec IgM monoclonale présente dans le sang et le liquide d'ascite, l'étude cytogénétique a pu mettre en évidence un clone commun dans l'ascite et dans le sang périphérique, mode à 56 chromosomes avec acquisition dans le groupe C et présence d'un grand marqueur pseudo A.

Les noyaux trouvés dans le liquide d'ascite sont réguliers à chromatine claire, sans dysmorphie évoquant par leur morphologie les noyaux des immunoblastes.

Résultats en cytologie : frottis classe IV.

b)4-3- Cancers du rein = 2 cas

Les critères chromosomiques font défaut ; dans un seul cas, il existe

de rares mitoses, mais leur altération ne permet pas d'en faire l'analyse ; par contre les noyaux interphasiques sont hautement dysmorphiques, parfois isolés, parfois groupés en amas ; la masse chromatinienne est souvent très contournée avec de véritables pseudopodes ; prend parfois un aspect annulaire très particulier ; cet aspect a été retrouvé dans d'autres états néoplasiques et on ne peut en faire un critère d'origine.

Résultats en cytologie : frottis classe I dans les 2 cas.

b)4-4- Cancers du foie d'origine métastatique = 2 cas

Dans 2 cas, les malades présentent des antécédents néoplasiques connus, un cancer bronchique et un cancer du larynx.

Nous avons eu des critères chromosomiques dans le cas de cancer bronchique, hypoploïdie et anomalies de structure associées. Dans l'autre cas, seul l'aspect des noyaux a permis d'évoquer un processus malin.

Résultats en cytologie : frottis classe I dans les 2 cas.

b)4-5- Carcinose péritonéale d'origine indéterminée = 4 cas

Dans les 4 cas, il s'agit de sujets féminins et il a pu être évoqué une origine génitale, ovarienne probable.

L'examen cytogénétique montre dans tous les cas un envahissement par des noyaux de type néoplasique monstrueux, accompagnés de mitoses très hyperploïdes, de 100 chromosomes jusqu'à 400, les anomalies de structure variées étant la règle. Dans 2 cas, on note la présence d'un marqueur de type 5p-.

Résultats en cytologie : frottis classe IV dans les 4 cas.

TABLEAU RECAPITULATIF DES RESULTATS DES ASCITES MALIGNES D'ORIGINE DIVERSE

étiologie	nombre de cas	conclusions	cytogénétique	cytologie
mésothéliome	4	malin	4 100 %	4 100 %
Waldenstrom	1	malin	1	1
cancer du rein	2	malin	2 100 %	- -
		faux-négatif	- -	2 100 %
cancer du foie métastatique	2	malin	2 100 %	- -
		faux-négatif	- -	2 100 %
carcinose péritonéale	4	malin	4 100 %	4 100 %

Tableau n° 23

3 - ETUDE DES 32 CAS OU LE DIAGNOSTIC CLINIQUE EST IMPRECIS :

Nous avons jusqu'à présent envisagé 300 cas, 196 ascites bénignes et 104 ascites malignes, pour lesquels nous avons un diagnostic clinique absolu (constatations macroscopiques lors d'interventions chirurgicales ou vérifications post mortem et histologiques).

Dans un esprit de rigueur, nous avons écarté, au début de notre enquête, 32 cas :

- Dans 17 de ces cas, le diagnostic clinique ne peut pas être précisé le malade n'ayant pu bénéficier d'investigations complètes permettant une conclusion valable (décès, départ précoce). Nous n'en présenterons pas les résultats.

- Par contre, pour les 15 autres cas, la malignité évoquée sur des éléments cliniques est pratiquement certaine, bien que manque un élément prouvant la malignité de façon absolue. Nous pensons que ces quinze cas méritent d'être discutés. Il s'agit de malades présentant une rapide baisse de l'état général, évoluant vers le cachexie en quelques semaines, des douleurs abdominales vives, un épanchement souvent hémorragique se reproduisant rapidement, parfois des troubles du transit intestinal, parfois des oedèmes des membres inférieurs par compression, parfois une hépatomégalie de consistance dure, marbrée.

Les résultats en cytogénétique et cytologie ont été les suivants :

a) Critères absolus de malignité : 9 fois (dont 4 suspicions de cancers de l'ovaire).

8 fois hyperploïdie avec anomalie de structure (3 fois un marqueur est signalé) et noyaux dysmorphiques.

1 fois hypoploïdie avec anomalie de structure et marqueur, noyaux dysmorphiques.

Les conclusions en cytologie sont : Frottis classe IV 7 fois
Frottis classe III 2 fois.

b) Suspicion de malignité sans critère absolu : 4 fois

On observe des mitoses rares, proches de la diploïdie, sans anomalie de structure (techniques Standards), mais les noyaux sont atypiques par leur taille ou leur groupement.

Les conclusions en cytologie sont : Frottis classe III 2 fois
 Frottis classe I 2 fois.

c) Absence de critère de malignité : 2 fois

Absence de mitose et noyaux d'aspect normal.

Les conclusions en cytologie sont : Frottis classe III 1 fois
 Frottis classe I 1 fois.

Ces observations concordent avec les constatations faites précédemment. Les ascites, pour lesquelles l'histoire clinique fait évoquer une origine ovarienne, présentent des critères de malignité tant en cytogénétique qu'en cytologie.

Les résultats sont variables dans le cas où une origine digestive est présumée. Dans les cas où la possibilité d'un hépatome greffé sur cirrhose est évoquée, les critères de malignité sont absents par l'un ou l'autre méthode 1 fois, une suspicion est évoquée sur des atypies nucléaires dans un autre cas. L'expression cytologique des hépatomes se révèle, là encore, discrète.

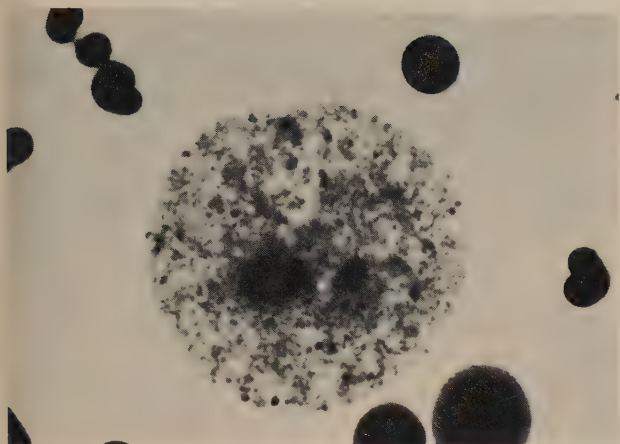


Photo n° 1

Mme R... : ascite métastatique d'un adénocarcinome de l'endomètre (fort grossissement : objectif X 100).

Noyau monstrueux à chromatine lâche et nucléoles denses, entouré de noyaux normaux de lymphocytes et de polynucléaires.

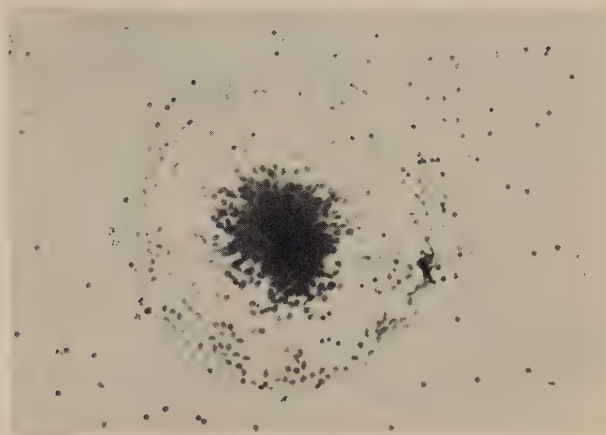


Photo n° 2

Mme V... : ascite métastatique d'un adénocarcinome ovarien (petit grossissement: objectif X 10).

Arrangement régulier et cohérent en pseudorosace - Présence de noyaux de lymphocytes et polynucléaires dispersés.

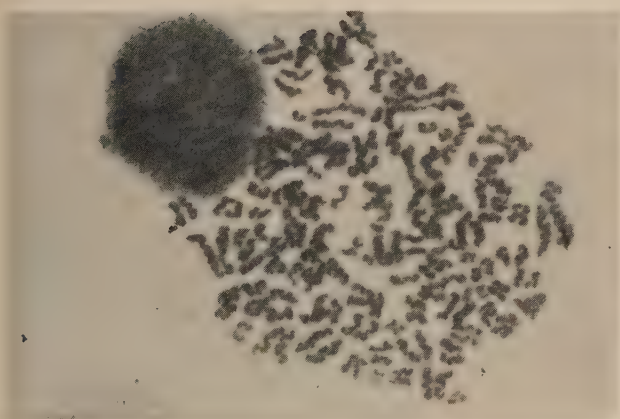


Photo n° 3

Mme B... : ascite métastatique d'un adénocarcinome ovarien (fort grossissement: objectif X 100).

Mitose hyperploïde - aspect "fuzzy" des chromosomes.

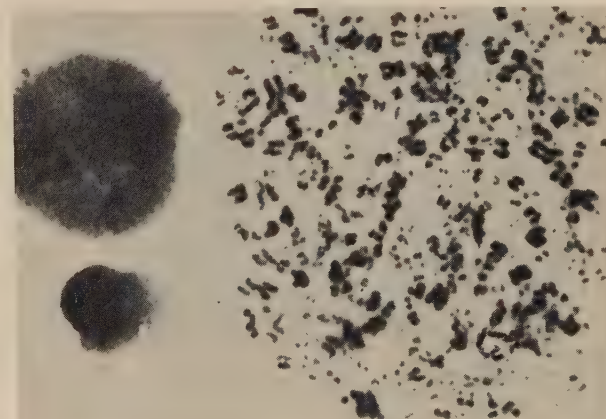


Photo n° 4

Melle P... : ascite métastatique d'un cancer digestif (fort grossissement : objectif X 100).

Aspect de pulvérisation.

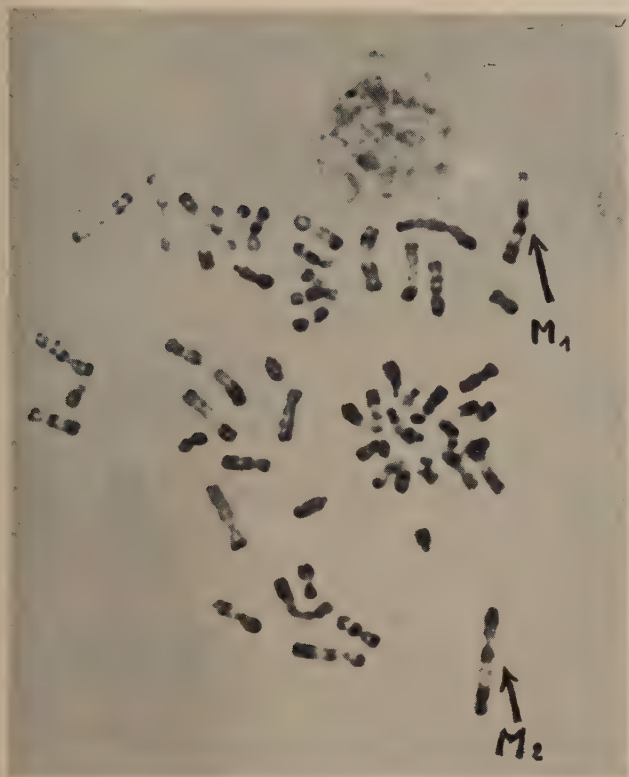


Photo n° 5

Mme 5... : ascite métastatique d'un adénocarcinome de l'endomètre (fort grossissement : objectif X 100).

Photo 5 : mitose hyperploïde - présence de 2 chromosomes marqueurs M_1 et M_2 .

Photo 6 : image partielle d'une mitose très hyperploïde - duplication du marqueur M_1 .

Photo n° 6

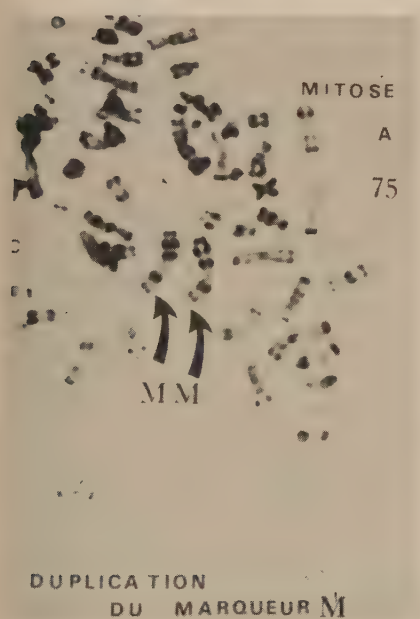


Photo n° 7

Mr Q... : mésothéliome péritonéal (fort grossissement : objectif X 100).

Image partielle d'une mitose à 75 chromosomes - endoréduplication sélective du marqueur M.

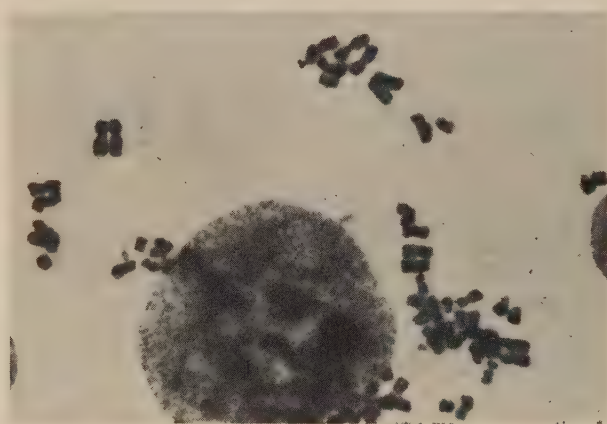


Photo n° 8

Mme F... : ascite métastatique d'un cancer de la vésicule biliaire (fort grossissement : objectif X 100).

Image partielle d'une mitose hyperploïde - endoréduplications proches d'un noyau monstrueux.

C H A P I T R E V I

JUSTIFICATION DES CRITERES PAR LES RESULTATS

Dans nos examens, nous avons utilisé les données désormais classiques exposées par différents auteurs, HANSEN-MELANDER, JACOB, GOODLIN, ISHIHARA, SANDBERG pour ne citer qu'eux. Nous rappelons ces critères déjà exposés dans le chapitre de méthodologie.

Le critère de malignité absolu est incontestablement l'hyperploïdie associée à une anomalie de structure définie, le marqueur. Trois mitoses examinées comportant ces caractères nous semblent suffisantes pour affirmer le diagnostic. Nous devons toutefois préciser que nous réservons l'appellation de "marqueur" à un chromosome de morphologie anormale et constante : taille, indice centromérique et, dans tous les cas possibles, techniques des bandes. Les anomalies de structure variables telles qu'anneaux, chromosomes minutes, délétions, cassures etc... ne sont pas retenues comme critère absolu ; la radiothérapie, même ancienne, les infections virales ou chimiothérapie concomitantes peuvent entraîner ce type d'anomalies.

Un deuxième critère absolu est apporté par une hypoploïdie régulière associée à une anomalie de structure de type "marqueur", l'ensemble évoquant la possibilité d'un clone. L'hypoploïdie isolée sans marqueur ne constitue pas un critère absolu ; ce type d'anomalie est fréquemment rencontré lors de cultures cellulaires (lymphocytes) dont les paramètres techniques sont parfaitement définis ; dans le cadre des liquides d'épanchement, où les conditions techniques sont variables (richesse cellulaire), les hypoploïdies sont encore plus fréquentes et il est difficile de faire la part de l'artéfact induit par un choc hypotonique trop poussé.

Enfin un critère, qui s'avère raisonnablement fiable, est apporté par l'examen des noyaux interphasiques. Nous avons rapporté dans ce travail les résultats de 332 examens de liquides d'ascites ; mais notre expérience se base également sur l'étude de 207 pleurésies pour lesquels les critères cliniques de bénignité ou de malignité ont été formellement établis (thèse de Marc BURLAT)(12).

Il est bien certain que les noyaux néoplasiques qui présentent des caractères de malignité indiscutables (dysmorphies majeures, envahissement total de l'échantillon) n'échappent pas dans la plupart des cas à l'examen du cytologiste. Cependant, dans le cas de noyaux isolés, le choc hypotonique entraînant un gonflement des membranes permet une appréciation plus précise du contenu nucléaire.

D'autre part le choc hypotonique a l'avantage de détruire les hématies lorsqu'il s'agit de liquide sanglant ; la présence de sang est une gêne considérable pour les cytologistes dont la réponse pour un frottis sanglant est classé systématiquement parmi les réponses suspectes (classe III).

1 - POPULATION TEMOIN - LES ASCITES BENIGNES

1 - 1 - Résultats cytogénétiques :

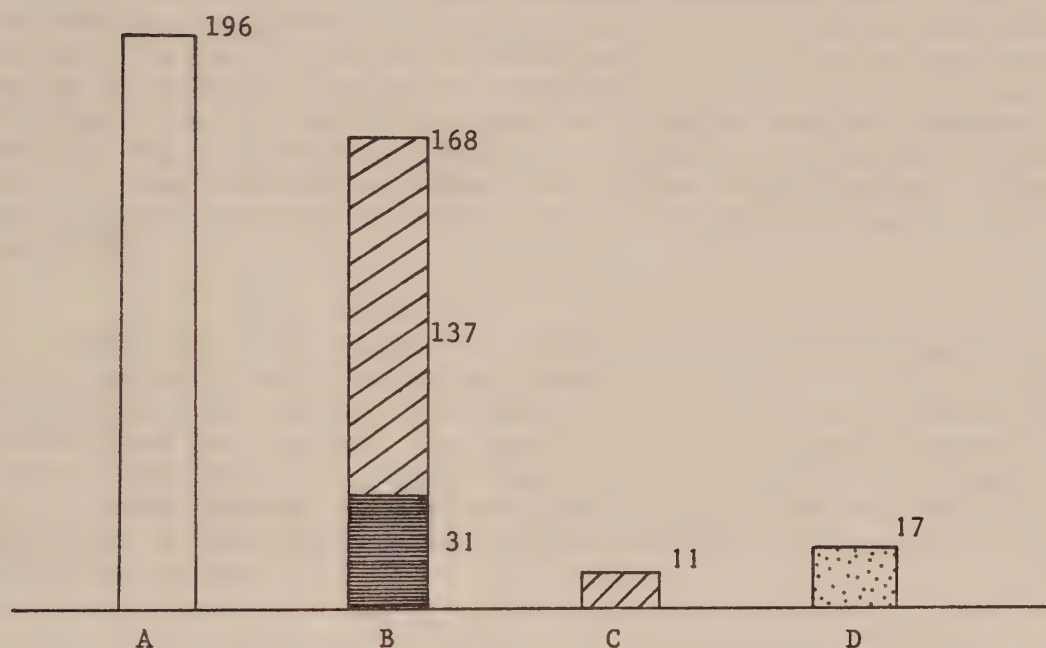


Schéma n° 5

Population témoin : résultats cytogénétiques et critères de diagnostic constatés

- colonne A : nombre total de cas : 196
- colonne B : conclusion "absence d'anomalie" : 168 cas
- colonne C : conclusion "éléments suspects" : 11 cas
- colonne D : absence de conclusion (acellulaire) : 17 cas.



Critères chromosomiques



critères nucléaires



absence de critère : liquides acellulaires

1 - 1 - 1 - Absence de critères de malignité : 168 cas soit 85,7 %

a) Les critères chromosomiques sont rarement présents (31 cas). Des anomalies de structure ne sont jamais trouvées (techniques standards). Dans 20 cas, les mitoses sont diploïdes. Dans les 11 autres cas, les mitoses sont soit proches de la tétraploïdie, soit hypoploïdes : artéfact rencontré fréquemment incitant à la prudence.

b) Le plus souvent, en l'absence de critères chromosomiques, on conclue à la bénignité devant l'aspect non dysmorphique des noyaux interphasiques : 137 cas.

1 - 1 - 2 - Limites de la méthode : 28 cas soit 14,3 %

a) Noyaux "inhabituels" sans signe évident de malignité obligeant à faire des réserves ; ce sont les noyaux suspects rencontrés dans 11 cas. Dans 7 cas, les mitoses sont présentes mais très rares (2 à 5) ; elles sont aneuploïdes mais il n'y a pas d'anomalie de structure chromosomique ; les réserves sont motivées par la présence d'un faible contingent de noyaux de taille inhabituelle parfois groupés, parfois nucléolés. Dans les 4 autres cas, en l'absence de mitose, on évoque une suspicion de malignité devant l'aspect atypique des noyaux interphasiques. Il s'agit vraisemblablement de cellules mésothéliales irritées ; 3 fois ces dernières ont été mentionnées dans le compte-rendu de cytologie (frot-tis classe III).

Parmi ces 11 cas suspects en cytogénétique, il faut signaler le cas d'un malade porteur d'une pancréatite chronique (Mr. SOL...) ; il n'est pas rare de rencontrer au cours des pancréatites chroniques, tant dans les épanchements péritonéaux que pleuraux, des anomalies cytogénétiques obligeant à faire des réserves, sans qu'il ne s'agisse jamais de dysmorphie vraie, comme si les amylases et autres enzymes cytolytiques présentes créaient des perturbations de distribution chromosomique et des aspects inhabituels des noyaux des cellules de l'épithélium séreux.

Un autre cas est celui d'une ascite d'origine tuberculeuse, où les noyaux sont remarquables par leur taille et leur groupement ; l'ascite a régressé sous traitement spécifique et l'évolution a confirmé l'absence de néoplasie.

L'étiologie commune des 9 autres cas est une sclérose hépatique ; la possibilité d'une néoplasie a été exclue devant un faisceau d'éléments en faveur de la bénignité : alpha-foeto-protéine, laparoscopie, intervention chirurgicale, vérification post-mortem ou évolution favorable plusieurs mois ou années après.

Dans ces 11 cas, il est donc possible d'exclure une éventuelle néoplasie ; comme notre réserve est chaque fois motivée par l'aspect des noyaux, il faut peut-être être plus prudent pour les critères nucléaires. Nous avons jusque là travaillé en aveugle, sans corrélation avec la cytologie, l'histologie et la clinique. A l'occasion de ce travail nous avons pu établir des classifications et nous pensons améliorer nos résultats à venir, compte-tenu de l'observation à postériori de nos cas douteux.

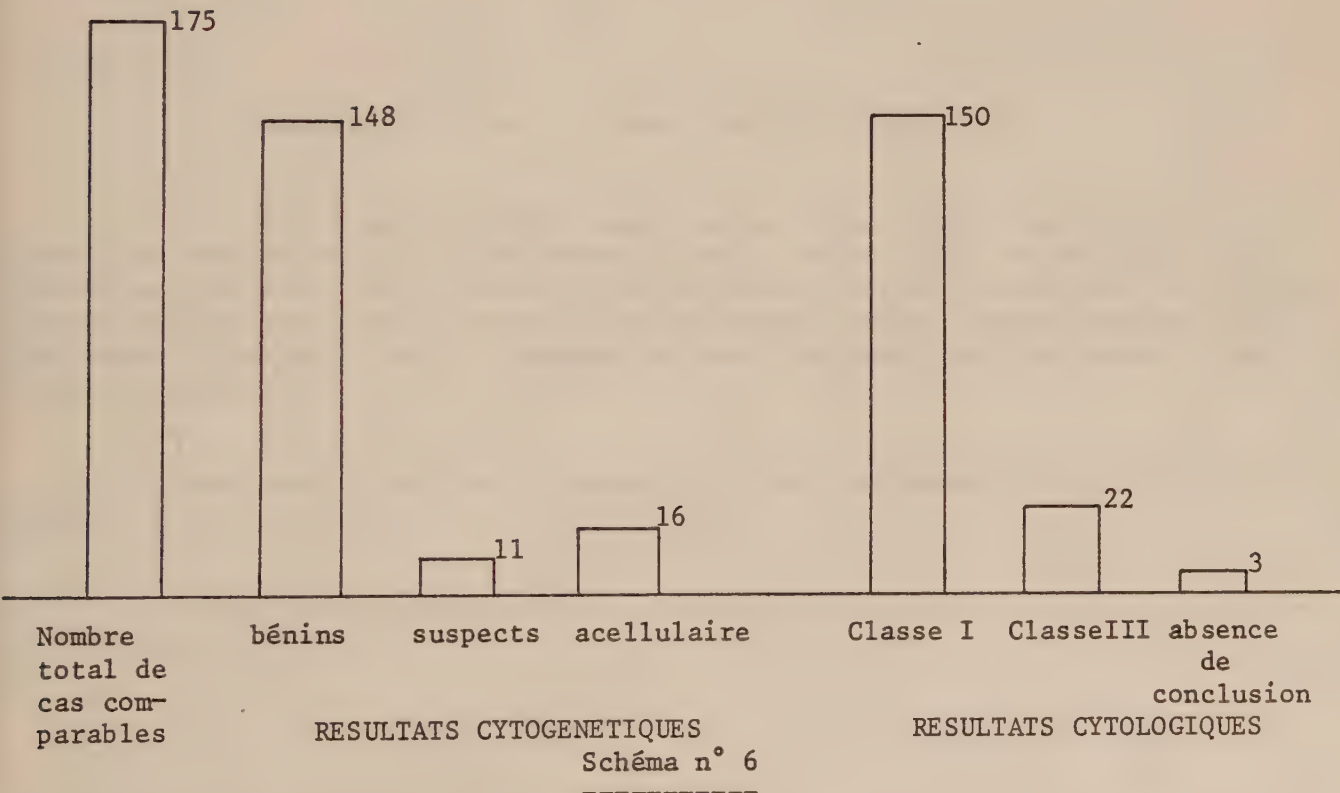
b) Absence d'élément : liquides acellulaires (17 cas)

La prudence incite à un refus de conclusion.

En conclusion, dans notre population témoin, nous n'avons pas eu à déplorer de faux-négatif vrai.

1 - 2 - Résultats de cytologie et comparaison :

Celle-ci a été possible dans 175 cas.



Comparaison des résultats cytogénétiques et cytologiques des ascites bénignes sur
175 cas

1 - 2 - 1 - Absence de critère de malignité en cytologie = 150 cas soit 85,7 %

Il s'agit des étalements de classe I et II.

- Dans 132 cas, les résultats sont concordants avec les conclusions de cytogénétique.

- 7 fois, nous avons une discordance avec la cytogénétique, les aspects des noyaux interphasiques étant suspects.

- 11 fois l'étalement en cytogénétique est acellulaire et ne permet aucune conclusion.

1 - 2 - 2 - Limite de la méthode en cytologie : 22 cas

a) Liquides sanglants : 3 cas.

Ils sont classés suspects pour cette raison uniquement. L'aspect des noyaux observables en cytogénétique après éclatement des hématies lors du choc hypotonique ne présente aucune atypie. Quelques rares mitoses sont présentes dans un cas et sont considérées comme normales (hypoploïdie mais sans anomalie de structure). Les éléments cliniques confirment tout à fait la bénignité de l'épanchement.

b) Eléments atypiques : 19 cas (Frottis classe III)

Le frottis est considéré comme suspect classe III devant la présence, parmi une population cellulaire normale plus ou moins riche, de cellules inhabituelles par leur taille, parfois plurinucléées, parfois vacuolisées (une grosse vacuole unique refoulant le noyau à la périphérie pouvant donner l'aspect dit en "bague à chaton"), parfois groupées en amas quelques fois d'apparence organisée (muriformes).

Dans ces 19 cas, les éléments cliniques confirment tout à fait la bénignité de l'épanchement.

Aucun faux positif par contre (frottis classes IV et V) n'est à déplorer dans notre série.

c) Frottis inclassables : 3 cas

Le cytologiste s'est refusé à conclure 2 fois devant la pauvreté de l'étalement et 1 fois devant l'altération des éléments due à un délai excessif (24 heures) entre le prélèvement et l'observation au laboratoire.

En conclusion,

Les résultats sont grossièrement comparables :

- aucun faux positif n'est à déplorer dans les deux méthodes.

- Le nombre de cas suspects est peu différent, il est à signaler que sur les 33 cas suspects (11 en cytogénétique et 22 en cytologie), seuls 3 cas le sont par les 2 méthodes.

Par contre, la cytogénétique marque des points toutes les fois qu'un liquide est sanglant : les réserves en cytologie dues aux difficultés d'observation en présence d'hématies disparaissent en cytogénétique dont les techniques éliminent les hématies.

2 - LES ASCITES MALIGNES :

2 - 1 - Résultats cytogénétiques :

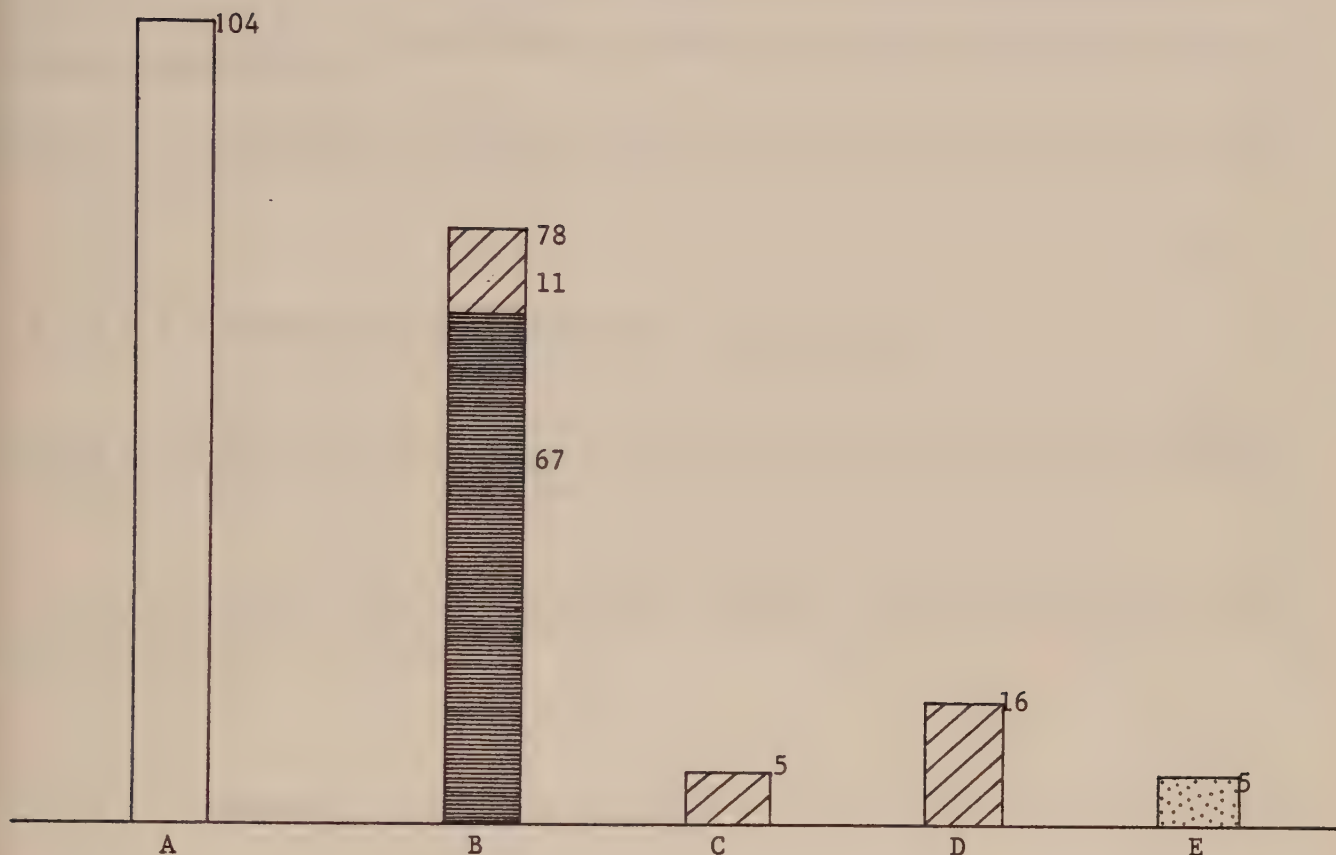


Schéma n° 7

Ascites malignes : résultats cytogénétiques et critères de diagnostic constatés

- Colonne A = nombre de cas : 104
- Colonne B = conclusion "malignité absolue" = 78 cas
- Colonne C = conclusion "suspicion" = 5 cas
- Colonne D = conclusion "absence d'anomalie" = 16 cas
- Colonne E = absence de conclusion "acellulaire" = 5 cas

-  critères chromosomiques
-  critères nucléaires
-  absence de critère = acellulaire

2 - 1 - 1 - Critères absolus de malignité :

Sur 104 ascites malignes, la malignité a été affirmée 78 fois.
Les critères chromosomiques absolus sont constatés 67 fois :

- 60 fois : hyperploïdie avec anomalies de structure et noyaux dysmorphiques ;
- 7 fois : hypoploïdie associée aux anomalies de structure et aux noyaux dysmorphiques.

Les critères nucléaires isolés ont été en faveur de la malignité dans 11 cas, ceci en l'absence de mitose.

2 - 1 - 2 - Suspicion de malignité sans critère absolu :

5 cas au total. Dans 4 cas, les mitoses sont absentes et les dysmorphies nucléaires sont évocatrices d'un processus néoplasique mais trop discrètes pour qu'il soit possible d'affirmer la malignité.

Un cas est particulièrement délicat car les noyaux anormaux sont associés à des mitoses apparemment diploïdes (techniques standards) ; il s'agit d'un hépatome greffé sur cirrhose.

2 - 1 - 3 - Absence de critère de malignité :

Dans 16 cas, il n'y a aucun critère chromosomique (absence de mitose) et rien n'attire l'attention dans la morphologie des noyaux interphasiques. Parmi ces 16 cas, il y a 13 hépatomes greffés sur cirrhose.

2 - 1 - 4 - Etalements acellulaires :

Dans 5 cas enfin sur 104, le culot cellulaire est pratiquement inexistant et nous n'avons, de ce fait, pu formuler aucune conclusion.

2 - 2 - Résultats en cytologie et comparaison :

2 - 2 - 1 - Résultats globaux par les deux méthodes : (Schéma n° 8 et tableau n°24).

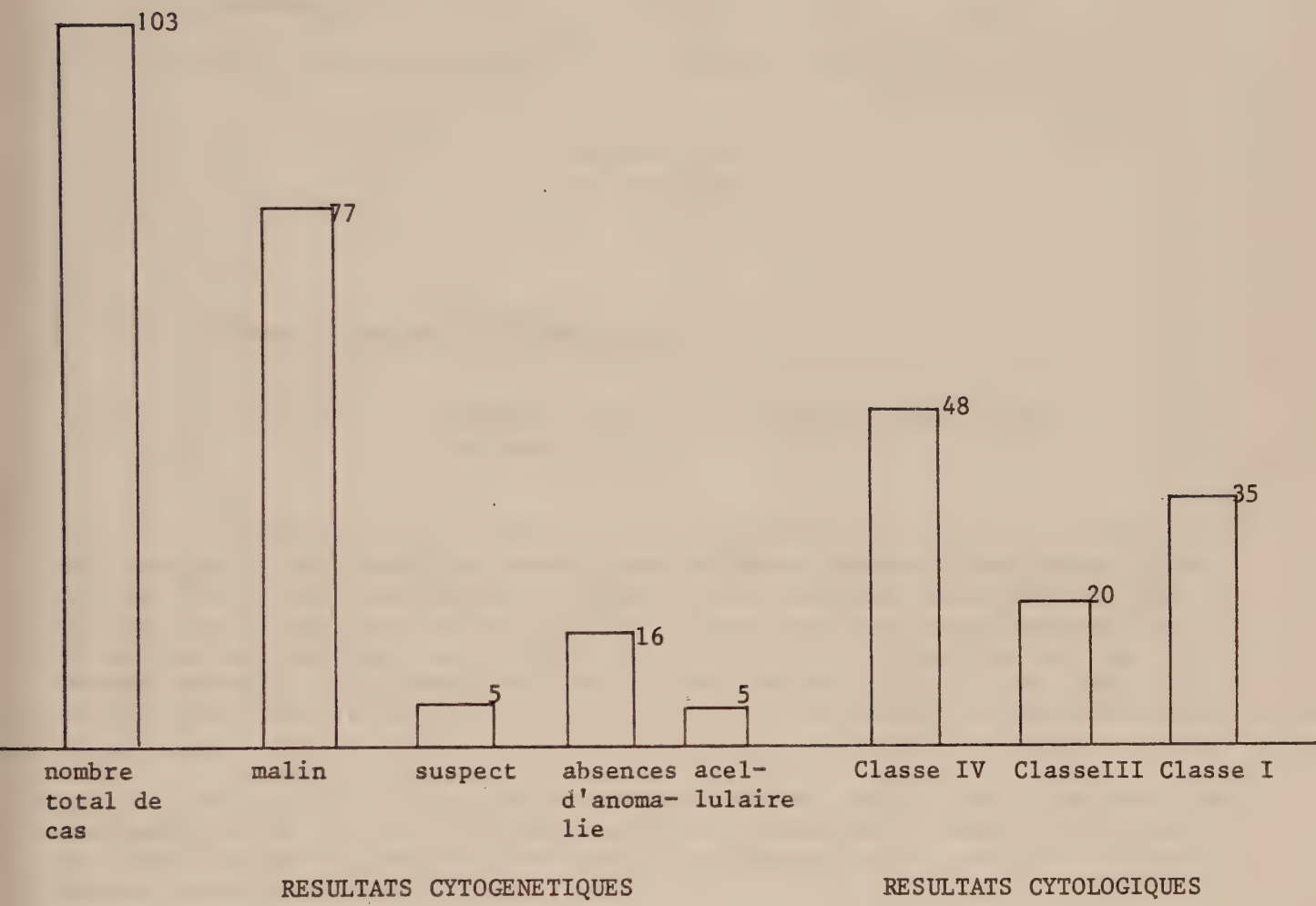


Schéma n° 8

Comparaison des résultats cytogénétiques et cytologiques des ascites malignes
(sur 103 cas)

La comparaison des résultats de cytogénétique et de cytologie est incontestablement en faveur de la cytogénétique où 77 fois sur 103 cas comparables le diagnostic de malignité a été apporté contre 48 fois en cytologie.

conclusions	cytogénétique	cytologie
malin	75 %	47,6 %
suspect	4,5 %	19 %
faux-négatif	20,5 %	33,4 %

Tableau n° 24

2 - 2 - 2 - Comparaison des différents cas :

2 - 2 - 2 - 1 - Critères absolus en cytogénétique = 78 cas
(tableau n° 25).

La comparaison des résultats de cytogénétique et de cytologie montre que, lorsque la cytogénétique présente des critères évoquant formellement la malignité, le frottis en cytologie n'objective pas forcément des aspects malins (47 fois sur 77 cas comparables). Il faut d'autre part remarquer que, sur les 48 ascites néoplasiques diagnostiquées en cytologie, 47 présentent sur les étalements observés en cytogénétique des critères absolus ; un seul cas classé IV en cytologie, nous le verrons plus loin, a été un faux-négatif en cytogénétique.

On doit noter qu'il existe une concordance parfaite entre les résultats cytogénétiques et cytologiques dans les cas de cancers de l'ovaire (25 cas sur 29), dont l'expression est le plus souvent exubérante, ainsi que dans les cas de mésothéliomes (4 cas sur 4).

Cependant les discordances méritent d'être analysées : il s'agit des 12 cas classés III en cytologie et surtout des 18 cas classés I, alors que des critères absolus de malignité ont pu être affirmés par les techniques de cytogénétique.

Etude des 12 cas classe III (commentaires du tableau n° 25). La classe III de la cytologie est considérée avant tout comme une classe d'attente. Il est généralement admis de mettre dans cette classe les liquides sanglants même si l'attention du cytologiste n'est retenue par aucune anomalie cellulaire (2 cas). Cette même classe III comporte aussi les étalements sanglants avec cellules anormales mais dont le caractère néoplasique ne peut pas être affirmé (4 cas). En dehors des caractères sanglants, c'est également dans la classe III que l'on range des frottis où l'on rencontre des éléments atypiques parfois même dysmorphiques (6 cas).

étiologie	nombre total de cas	nombre de cas malins en cytogénétique	résultats en cytologie		
			classe IV	classe III	classe I
ovaire	29	28	25	1	2
sein	3	1	1	-	-
col utérin	1	1	-	1	-
corps utérin	1	1	1	-	-
Hépatome / cirrhose	25	8	1	6	1
hépatome sans cirrhose	5	5	3	1	1
estomac	8	7	2	2	2
recto-colon	7	4	1	-	3
pancréas	7	5	2	-	3
cancer biliaire	5	5	2	1	2
mésothéliome	4	4	4	-	-
waldenstrom	1	1	1	-	-
rein	2	2	-	-	2
cancer se- condaire du foie	2	2	-	-	2
carcinose péri- tonéale d'origi- ne indéterminée	4	4	4	-	-
total	104	78	47	12	18
dans un cas de cancer d'estomac l'examen en cytologie n'a pas été pratiqué					

Tableau n° 25

Il est bien certain que la préoccupation première d'un biologiste reste le faux-positif et que certains étalements, bien qu'à la limite de la malignité, conservent la classification III, véritable classe d'attente ; un nouveau prélèvement est très généralement fait dans les jours qui suivent. Il est donc difficile de parler de discordance vraie entre la cytologie et la cytogénétique ; cette dernière a apporté des précisions : "présence de critères absolus".

Mais il faut souligner que 18 ascites néoplasiques certaines n'ont pas fourni au cytologiste des éléments permettant de faire le diagnostic de malignité ni même de suspicion ; rien n'a retenu l'attention de l'observateur. L'examen de cytogénétique du même prélèvement a bénéficié de la découverte d'éléments indiscutablement malins : on peut parler ici de discordance vraie.

2 - 2 - 2 - 2 - Cas suspects en cytogénétique = 5 cas
(tableau n° 26).

étiologie	nombre total de cas	nombre de cas suspects en cytogénétique	résultats en cytologie	
			classe III	classe I
ovaire	29	1	1	-
estomac	8	1	1	-
hépatome/ cirrhose	25	3	2	1
		—	—	—
		5	4	1

Tableau n° 26

Dans le cas du cancer de l'ovaire et celui du cancer gastrique, l'intervention chirurgicale a permis de constater la présence de métastases péritonéales et nous devons reconnaître que les éléments ne présentent pas de caractères absolus de malignité : absence de mitose, altérations nucléaires discrètes, la cytologie adoptant la classe III en raison du caractère sanglant de l'un des prélèvements.

Dans les 3 autres cas, il s'agit d'hépatomes : le caractère de suspicion est purement nucléaire et porte davantage sur les aspects groupés des noyaux que sur leur dysmorphie réelle.

2 - 2 - 2 - 3 - Absence de critère de malignité = 16 cas
(tableau n° 27).

étiologie	nombre total de cas	nombre de cas normaux en cytogénétique	résultats en cytologie		
			classe IV	Classe III	classe I
recto-colon	7	3	1	1	1
hépatomes sur cirrhose	25	13	-	3	10
		16	1	4	11

Tableau n° 27

Dans les 3 cas de cancer recto-colique, l'intervention chirurgicale a précisé l'extension des lésions au péritoine et foie ; il s'agissait donc bien de cancers métastatiques et nous n'avons trouvé aucun critère de malignité.

Dans 1 cas, la réponse cytologique classe IV était beaucoup plus attendue ; nous avons revu à postériori nos préparations, mais rien ne peut nous faire porter un diagnostic de malignité, ni même une suspicion.

2 - 2 - 2 - 4 - Etalements acellulaires = 5 cas
(tableau n° 28).

étiologie	nombre total de cas	nombre de cas acellulaires cytogénétique	résultats en cytologie classe I
sein	3	2	2
pancréas	7	2	2
hépatome/ cirrhose	25	1	1
		— 5	— 5

Tableau n° 28

Ces 5 cas acellulaires donnent également un étalement très pauvre en cytologie. Il s'agit de cancers connus avec métastases péritonéales et un traitement antimitotique (5 fluoro-uracile ou cyclophosphamide) a été entrepris dans les 4 à 6 jours précédents le prélèvement ; il est vraisemblable que la pauvreté en éléments cellulaires soit liée à la chimiothérapie.

En conclusion, dans notre population témoin, nous n'avons eu à déplorer aucun faux-positif. Dans 11 cas, nous avons cru prudent de formuler des réserves et, dans 17 cas, nous n'avons pas donné de conclusion le liquide étant acellulaire. Il nous paraît en effet imprudent de classer les liquides acellulaires avec les liquides inflammatoires bénins, puisque, sur 104 ascites malignes, 5 sont également acellulaires. Bien que le rôle de la chimiothérapie puisse être évoqué pour ces 5 cas, il est difficile de l'affirmer.

Les critères chromosomiques se sont montrés particulièrement fiables dans le cadre des ascites néoplasiques, puisque ils ont permis de faire le diagnostic dans 67 cas sur 104, soit 64,4 %. Les critères nucléaires ont été d'une bonne valeur, puisqu'en l'absence de critères chromosomiques, leur présence nous a permis de faire 11 diagnostics certains de malignité ; les noyaux dysmorphiques sont d'autre part présents toutes les fois que l'on trouve des critères chromosomiques absolus. Le diagnostic positif a donc été formellement établi 78 fois sur 104, soit dans 75 % des cas.

Sur les 78 ascites où le diagnostic de malignité est fait en cytogénétique, la comparaison avec la cytologie a pu être établie dans 77 cas, un malade n'ayant pas bénéficié de l'examen cytologique. 47 fois, les résultats des deux méthodes concordent dans le sens de la malignité ; 12 fois, une cytologie classe III a pu être précisée de façon formelle en cytogénétique comme étant en réalité maligne.

Le clinicien serait donc tenté de réserver l'examen cytogénétique à un second temps d'observation, quand l'examen cytologique de routine a apporté un résultat suspect méritant d'être précisé. En fait, l'analyse comparative des résultats exprime de façon statistiquement valable une toute autre réalité : 18 fois sur 77 cas malins en cytogénétique (soit 25 %), la cytologie est sans discussion en faveur de la bénignité (classe I). Il est donc très souhaitable de demander les deux examens dès le premier prélèvement.

Enfin en toute logique, le clinicien est en droit de penser que, lorsque l'examen cytologique apporte une réponse (souvent attendue) classe IV ou V, l'examen cytogénétique devient inutile. En réalité, nous pensons que ce type d'examen reste nécessaire dans cette circonstance également ; en effet, les examens cytogénétiques ne sont pas encore devenus des examens de routine et l'observation de lames provenant de cas non sélectionnés, c'est à dire aussi bien bénins que malins, est indispensable pour conserver le caractère objectif de l'examen. D'autre part, le cytogénéticien est confronté dans un second temps avec un problème autre que celui du diagnostic ; les anomalies chromosomiques font partie de la cancérogénèse, les techniques complexes des bandes permettent l'étude des structures fines des chromosomes et l'analyse statistique des résultats pourra peut-être un jour fournir un élément utile à la compréhension de la maladie.

CHAPITRE VII

DISCUSSION A PROPOS DE CAS PARTICULIERS

1 - HEPATOMES GREFFES SUR CIRRHOSE :

Nous avons regroupé dans cette rubrique 25 malades. Le problème de l'hépatome reste l'un des plus difficiles à résoudre pour le cytologiste et le cytogénéticien. La proportion des résultats négatifs est exceptionnellement élevée dans les ascites associées à un hépatome greffé sur cirrhose : 17 cas sur 25 en cytogénétique, 24 cas sur 25 en cytologie. S'agit-il réellement de faux négatifs; ou l'ascite est-elle l'expression de la sclérose hépatique ?

1 - 1 - Arguments cliniques et paracliniques :

Pour ces malades, les arguments cliniques sont toujours présents ; il s'agit d'une cirrhose éthylique, connue, ancienne, chez lesquels sont apparues des douleurs localisées et tenaces de l'hypocondre droit ; la palpation du foie montre une augmentation de volume plus ou moins rapide et permet parfois de repérer un nodule.

Les examens paracliniques et biologiques complètent ces observations : dosage de l'alpha-foeto-protéine, vérification post-mortem macroscopique et histologique, ponction biopsie hépatique, artériographie du tronc coeliaque ou de l'artère hépatique (zone d'hypervascularisation), laparoscopie (granulations néoplasiques sur la surface du foie).

Selon les résultats de ces examens, soit isolés, soit couplés, il a été retenu 22 cas d'hépatomes certains ; dans 3 cas, la discussion entre un hépatome sur cirrhose et un cancer secondaire du foie a pu être envisagée, mais le diagnostic d'hépatome est cependant plus probable (cirrhose du foie certaine et ancienne).

Les critères diagnostiques trouvés sont résumés dans le tableau ci-contre : (tableau n° 29).

a) diagnostic absolu : 22 cas

. Alpha-foeto-protéine positive : 15 cas

diagnostic confirmé par nécropsie : 3 fois

par ponction biopsie hépatique : 2 fois

. Alpha-foeto-protéine négative : 7 cas

diagnostic apporté par nécropsie : 6 fois

par ponction biopsie hépatique : 1 fois

b) diagnostic probable : 3 cas

. Mme ETA... : laparoscopie : granulations d'aspect néoplasique
alpha-foeto-protéine : négative

. Mr. GEY... : scintigraphie }
artériographie } en faveur d'un néoplasme
absense de dosage de l'alpha-foeto-protéine
hépatique

. Mr. FAN... : scintigraphie : lacune suspecte
alpha-foeto-protéine : négative

Tableau n° 29

1 - 2 - Rappels des résultats de cytogénétique et de cytologie :a) diagnostic absolu : 22 cas

résultats	cytogénétique	cytologie
critères de malignité	5	1
suspect	3	9
négatif	13	12
acellulaire	1	-
	22	22

b) diagnostic probable : 3 cas

résultats	cytogénétique	cytologie
critères de malignité	3	-
suspects	-	2
négatifs	-	1

Tableau n° 30

Dans 2 des 3 observations de diagnostic probable, la discrétion habituelle de l'expression des hépatomes tant sur le plan chromosomique que nucléaire fait défaut (cas de Mr. GEY... et de Mr. FAN...). On ne retrouve pas de petits noyaux hyperchromatophiles, de forme régulière, groupés parfois en amas organisés ; les étalements présentent au contraire des éléments hautement dysmorphiques qui attirent d'emblée l'attention : hyperploïdie majeure (110 à 150 chromosomes), anomalies de structure évidentes et grands noyaux clairs à chromatine lâche, bourgeonnants.

1 - 3 - Discussion :

Nos résultats concordent avec les données histologiques de l'hépatome. Les altérations cellulaires sont variables ; si la cellule de l'hépatome rappelle parfois la cellule de l'hépatocyte normal, elle peut présenter aussi une anaplasie plus ou moins marquée avec basophilie du cytoplasme, variation de taille et anomalies nucléaires nettes ; les mitoses sont rares mais parfois monstrueuses.

Les mêmes variations ont été décrites dans l'hépatome expérimental du rat ; les examens chromosomiques réalisés par NOWELL (62) font état de formes à "déviatoin minimale", le nombre de chromosomes restant diploïde et de formes à déviatoin majeure de type hyperploïde.

Il serait vain de rechercher un élément diagnostique stable dans le cadre de l'hépatome.

Dans 13 cas sur 25, nous n'avons pas mis en évidence d'élément malin ni même suspect ; l'étalement généralement pauvre rappelle celui de l'ascite banale. Les études macroscopiques du foie atteint d'un processus tumoral greffé sur cirrhose montrent la présence de nodules parfois strictement intrahépatiques, mais aussi de nodules d'affleurement multiples. Il n'est pas évident que les cellules néoplasiques desquament et il est bien concevable que le mécanisme de production de l'ascite puisse être un blocage veineux par la sclérose hépatique elle-même ou une compression du système veineux par un nodule tumoral, l'ascite relevant ici d'hypertension portale.

Le terme de "faux-négatif" employé dans nos résultats pourrait être révisé et dans certains cas, on peut légitimement penser qu'il s'agit d'un négatif vrai.

2 - POLYSÉRITES :

Nous avons remarqué une association d'un épanchement pleural et péritonéal dans 17 cas. Il s'agit de 4 polysérites de nature bénigne et de 13 de nature maligne. Nous avons pensé qu'il pouvait être intéressant de comparer les résultats cytogénétiques et cytologiques des deux localisations de l'épanchement.

2 - 1 - Polysérites bénignes : 4 cas

Les étiologies en sont classiques :

- une insuffisance cardiaque avec anasarque,
- une tuberculose pleurale et péritonéale,
- un syndrome de panhypopituitarisme,
- un syndrome de Demons-Meiggs typique (Mme GOT...).

(Mme GOT...), présente, outre le double épanchement, une baisse importante de l'état général et à l'intervention chirurgicale, une tumeur ovarienne (kyste ovarien séreux, à paroi interne lisse, sans aucun caractère de malignité) ; l'ablation de cette tumeur a été suivie d'un rapide assèchement des épanchements et d'une amélioration durable de l'état général.

Les résultats cytogénétiques confirment l'absence de critère de malignité dans ces épanchements de nature bénigne. En cytologie, les frottis sont également considérés comme bénins, classés I.

2 - 2 - Polysérites malignes : 13 cas

Il s'agit de :

- 6 cancers de l'ovaire,
- 4 cancers d'origine digestive (tube digestif et ses annexes)
- 1 hépatome greffé sur cirrhose
- 2 mésothéliomes : l'association des deux épanchements est rare, car il s'agit d'un processus d'extension par contiguité en cas d'évolution prolongée ; ainsi Mr. PAT... a présenté une ascite 4 ans après le début de l'affection (pleurésie).

Une étude cytogénétique et cytologique a été pratiquée sur les deux épanchements dans les 6 cas. Dans certains cas, la pleurésie ou l'ascite est apparue avec un décalage de quelques mois ; mais nous avons retenu les seuls cas où les deux types d'examens ont été pratiqués dans un même laps de temps ; à la fois sur l'ascite et la pleurésie (les deux épanchements se manifestant en même temps chez le malade).

Les résultats d'examens pratiqués le même jour sont présentés dans le tableau suivant (tableau n° 31).

Les résultats des deux examens sont donc similaires ; la similitude des anomalies constatées est un argument pour l'origine identique de ces épanchements métastatiques.

Il nous semble intéressant de signaler ici la confirmation de la notion de cancer individualisé telle que l'a précisée DIPAOLO (18). En effet dans les

	ASCITE	PLEURESIE
Mme CHI... cancer de l'ovaire	nombreuses mitoses hyperploïdes anomalies de structure - petit marqueur cruciforme de la taille d'un chromosome F noyaux dysmorphiques frottis classe IV	aspect identique frottis classe IV
Mme BLA... cancer de l'ovaire	liquide riche - mitoses hyperploïdes - anomalies de structure marqueur 5p- - noyaux dysmorphiques en amas organisés frottis classe IV	liquide pauvre - mitose hyperploïdes - marqueur 5p- - noyaux dysmorphiques isolés frottis classe IV
Mme CHA... Cancer de l'ovaire	mitoses hyperploïdes - anomalies de structure - marqueur 5p- noyaux dysmorphiques frottis classe IV	aspect identique frottis classe IV
Mme FOR... cancer de la vésicule biliaire	nombreuses mitoses - hyperploïdie majeure- anomalies de structure - noyaux dysmorphiques frottis classe V	aspect identique frottis classe V
Mr. MON... mésothéliome	aneuploïdie - anomalies de structure - noyaux dysmorphiques dispersés frottis classe V	pas de mitose - noyaux dysmorphiques groupés en amas frottis classe V
Mr. PAT... mésothéliome	hyperploïdie - anomalies de structure - noyaux dysmorphiques frottis classe IV	aspect identique frottis classe IV

trois cas particuliers des polysérites liées à un cancer ovarien, nous avons fait les constatations suivantes :

1) Les noyaux sont très semblables dans les 3 cas, grande taille, chromatine d'un violet pâle sur laquelle se détache un gros nucléole bleu turquoise intense le plus souvent unique.

2) Par contre, chaque malade possède des anomalies chromosomiques qui lui sont propres ;

- nombre modal différent dans les 3 cas, respectivement 60, 70, 150.

- marqueur défini, une fois marqueur de type F, 2 cas ont un marqueur 5p-.

3) Pour chaque malade les anomalies chromosomiques de nombre ou de structure, les dysmorphies nucléaires sont identiques dans le liquide d'ascite et le liquide pleural.

L'hypothèse d'un clone dérivant d'une mutation primaire évoquée par BOVERI il y a 50 ans semble trouver ici une confirmation dans nos observations.

Les techniques des bandes sont ici très précieuses. Elles précisent dans le cas de marqueur des séquences parfaitement organisées et transmises de cellules à cellules.

3 - DESCRIPTION D'UNE OBSERVATION ISOLEE :

Il nous a paru intéressant de rapporter le cas de Mr HOL... pour lequel les conclusions de cytogénétique ont été l'élément déterminant pour l'intervention exploratrice en l'absence de tout autre argument en faveur de la malignité ; la découverte d'une tumeur gastrique et son ablation précoce ont été suivies d'une survie durable.

Monsieur HOL..., 51 ans, antécédents de paludisme à 21 ans et de coliques néphrétiques à 41 ans, est hospitalisé le 19 mars 1972 pour des crises douloureuses abdominales. Ces crises (4 au total) remontent à 6 mois ; la première était de siège sous costal gauche à irradiation précordiale faisant évoquer un accident coronarien (électrogramme négatif) ; les autres sont localisées à l'hypocondre droit, de courte durée (maximum 2 heures) et ne sont accompagnées ni d'accès fébrile ni de frisson. En dehors des crises, le malade a bon appétit ; il se plaint de pesanteur post prandiale, de ballonnement abdominal, de fréquentes éructations, de selles molles (3 à 4 par jour) sans rectorragie. Le malade ne souffre pas. L'examen clinique n'apprend rien.

Aucun examen paraclinique n'apporte d'élément formel :

- présence d'une lithiase vésiculaire (calcul unique de la taille d'un oeuf de pigeon)

- Une radiographie pulmonaire montre une surélévation de la coupole diaphragmatique droite. S'agit-il d'un kyste ou d'une tumeur hépatique ? La scintigraphie est normale et montre une simple ectopie hépatique thoracique.
- Sur le plan gastrique, les radiographies font évoquer une gastropathie à gros plis ; l'endoscopie ne montre pas d'aspect néoplasique ; les biopsies de muqueuses sont négatives.
- Par contre, la laparoscopie met en évidence, outre un lobe gauche hépatique très vascularisé et hémorragique, une lame d'ascite hémorragique.
- L'examen du liquide en cytologie est normal (frottis classe I).

Par contre l'observation des cellules du liquide d'ascite en cytogénétique le 25 mars 1972 permet de conclure à la présence de "critères absolus de malignité". L'étalement met en évidence de nombreux noyaux dysmorphiques dissociés, de grande taille et richement nucléolés ; des critères chromosomiques de malignité sont présents : anomalies de nombre, hypoploïdie et hyperploïdie, associées à des anomalies de structure ; il existe un très grand marqueur de taille supérieure à un chromosome numéro 1.

Malgré le bon état général, l'absence de douleur et une résorption apparemment totale de l'ascite sous traitement prednisone, aldactone. Une exploration chirurgicale est décidée devant ce résultat formel des cytogénéticiens.

Intervention le 18 avril 1972 : découverte dans une ascite hémorragique d'une volumineuse tumeur (poids 1,5 kilogrammes) de l'épigastre, molasse, encapsulée, très vascularisée, de revêtement fragile, non adhérente, implantée par un pédicule au ligament gastro-colique, ainsi que sur la grande courbure gastrique. L'estomac est normal, pas de granulation péritonéale. L'exérèse est réalisée dans de bonnes conditions. C'est cette tumeur qui avait été confondue en laparoscopie avec le lobe gauche du foie.

Anatomopathologie : "tumeur myoïde gastrique. Les caractéristiques cytonucléaires des éléments constitutifs sont celle de la malignité" (Dr BARIL).

Dans les suites, on note une reprise du travail en juin 1972, une vie normale et même sportive, un bon état général, aucun trouble digestif ni douloureux, pas d'hépatomégalie ni d'ascite. A la radioscopie, le diaphragme droit a repris sa position normale. Ce malade bénéficie d'une survie prolongée.

Nous avons rapporté cette observation car elle présente 3 pôles d'intérêt :

- un examen pratiqué précocément peut permettre un dépistage avant l'expression majeure de la maladie ;
- un malade, ayant un frottis classe I, peut bénéficier utilement d'un examen cytogénétique conduit parallèlement ;

- il est évident que les examens des liquides d'épanchement doivent être entrepris dans un premier temps du bilan, avant que le malade ait été soumis à un traitement.

4 - DE L'INFLUENCE DE LA CHIMIOThERAPIE :

On peut considérer deux groupes distincts :

- le prélèvement a été adressé au laboratoire alors que le malade bénéficie déjà d'un traitement antimitotique ;

- un premier prélèvement a été fait avant toute thérapeutique ; après une période de rémission liée à la chimiothérapie, avec assèchement de l'ascite, une récurrence se produit au cours de laquelle un prélèvement est à nouveau pratiqué.

Nous rapporterons ici brièvement les résultats de nos observations.

4 - 1 - Malades sous traitement chimiothérapique :

a) Nous avons regroupé 6 cas qui n'ont qu'un seul examen, le traitement ayant été entrepris dans les 4 à 6 jours précédents.

Dans 5 cas, alors que le processus néoplasique est connu et le malade est au stade terminal, tous les échantillons sont acellulaires. Nous avons, lors de l'exposé de nos résultats, rapporté cette coïncidence.

Dans 1 cas, (Monsieur LEL... cancer gastrique) les mitoses et les noyaux sont présents, mais les éléments sont altérés et l'on note la présence de nombreux chromosomes minutes dans les mitoses observées. On peut supposer que l'action thérapeutique a joué un rôle.

b) 2 malades ont bénéficié d'une analyse cytogénétique avant traitement et d'un deuxième examen au cours de traitement (FRAISSE J. et FRAISSE H.) (26).

Dans l'un des cas, (Madame LUM... cancer de l'ovaire) au cours du premier examen, l'échantillon est d'une grande richesse en cellules néoplasiques et les mitoses sont nombreuses ; l'aneuploïdie varie de 24 à 126 chromosomes avec un nombre modal à 65, un grand marqueur distal est identifié.

Le deuxième examen, pratiqué au sixième jour de cure de caryolysine, a donné des résultats totalement différents : les mitoses sont rares, 3 caryotypes sont

établis, il s'agit de mitoses à 46 chromosomes sans anomalie de structure décelable (techniques standards). La rémission obtenue chez cette malade a été de courte durée ; 4 mois plus tard, lors de rechute, on retrouve l'aneuploïdie majeure et les noyaux exubérants du premier examen, le décès survenant 2 mois plus tard.

Dans le second cas, (Madame PET..., carcinose péritonéale à point de départ génital ou digestif) le premier examen montre une aneuploïdie de type hyperploïdie avec un nombre modal à 65, 3 marqueurs de morphologie différente étant retrouvés dans II mitoses. Le malade est soumis à un traitement avec la prednisone et de la cyclophosphamide. Le deuxième examen fournit des mitoses où les chromosomes ne sont pas identifiables, souvent fragmentés, fuzzy ; la quantité de noyaux et leur dysmorphies sont identiques à ceux rencontrés lors de leur premier examen. L'évolution clinique n'a pas subi de rémission.

4 - 2 - Cas étudiés avant traitement, puis au cours de la rechute :

Le premier des cas précédents, celui de Madame LUM..., où le traitement avait induit très précocement une disparition des mitoses hyperploïdes, a été revu au cours de la rechute, 4 mois plus tard, on retrouve l'hyperploïdie majeure associée à des anomalies de structure très nombreuses. Les techniques de banding n'étaient pas encore applicables et il est difficile d'établir une comparaison valable entre les mitoses des deux examens successifs.

Le cas de Madame R... a été étudié de façon plus précise grâce aux méthodes de banding (FRAISSE J. et FRAISSE H.) (29). Il s'agit d'une malade de 55 ans, ayant eu une hystérectomie dans ces antécédents, hospitalisée en octobre 1973 pour une ascite volumineuse. Le prélèvement montre une richesse extrême, les mitoses étant toutes hyperploïdes et comportant deux types de marqueurs aisément repérables ; de plus le groupe D est, malgré l'hyperploïdie, toujours incomplet ; on peut évoquer la présence d'un véritable clone bien défini.

A l'intervention, on se trouve en présence d'une carcinose péritonéale et une biopsie sur granulome précise le diagnostic d'adénocarcinome atypique ayant pour origine probable l'endomètre. Un traitement chimiothérapique à base de cyclophosphamide et de 5 Fluoro-uracile est entrepris. On obtient une rémission avec assèchement de l'ascite et amélioration de l'état général, un traitement d'entretien ayant été institué.

La rechute survient en mai 1974 ; un nouveau prélèvement est adressé au laboratoire ; les mitoses sont nombreuses et les techniques de banding sont appliquées avec succès permettant un repérage précis des marqueurs. On retrouve des marqueurs identiques à ceux que l'on avait repérés en octobre 1973. Le groupe D est toujours déficitaire ; les chromosomes 13 et 15 sont toujours absents. Le nombre modal est autour de 52 chromosomes, mais les hyperploïdies à 81 et les hypoploïdies à 16 sont également présentes.

Cette observation privilégiée démontre la présence d'un clone cellulaire à l'origine de la maladie néoplasique. Les changements au niveau du génome ont été acquis une fois pour toutes et se retrouvent identiques lors de la rechute.

En conclusion, l'influence immédiate du traitement chimiothérapique sur les chromosomes est certaine (cassures, altérations, arrêt de la division cellulaire). Les antimitotiques remplissent le rôle attendu. L'influence à long terme ne semble pas modifier l'organisation cellulaire. Un clone de base existe, il est propre à chaque malade et il résiste à l'action de la chimiothérapie.

5 - DE L'UTILITE DES TECHNIQUES DES BANDES :

L'observation que nous venons de rapporter (celle de Madame R... cancer de l'endomètre utérin) présente pour le cytogénéticien un intérêt certain car elle apporte un argument à la théorie chromosomique du cancer.

Ce sont les techniques de dénaturation thermique (CARPENTIER, DUTRILLAUX) qui ont permis l'établissement précis du caryotype.

Il est très souhaitable que les techniques modernes des bandes soient employées dans l'étude des chromosomes néoplasiques, que ce soient les techniques par dénaturation thermique, ou les techniques utilisant l'action des enzymes ou encore les techniques faisant appel à la fluorescence. Mais on se heurte à des difficultés majeures ; le matériel chromosomique n'est pas toujours abondant et l'application de ces techniques est très souvent décevante.

Les cultures lymphocytaires dont les paramètres sont soigneusement contrôlés (quantité fixée de cellules mises en culture, stimulation de la division cellulaire par des agents contrôlés comme la phytohémagglutinine, arrêt de la culture dans des temps bien définis) se prêtent parfaitement aux techniques de bandes qui sont devenues des techniques de routine.

Il n'en est pas de même dans les cellules des liquides d'épanchement, et il semble que les propriétés enzymatiques propres à chaque cellule néoplasique perturbent les processus de dénaturation des chromosomes.

Si les techniques de banding ne sont pas nécessaires pour établir un diagnostic de malignité lorsqu'existent les critères absolus préalablement définis, par contre elles doivent être appliquées lorsqu'on se trouve en présence de cellules en apparence diploïdes, car ce sont les bandes qui permettent de classer avec certitude les chromosomes et donc de mettre en évidence des remaniements de

structure discrets.

Indépendamment de cet intérêt diagnostique, nous avons déjà souligné l'importance d'une étude approfondie des remaniements chromosomiques de la cellule néoplasique. L'exemple du chromosome de Philadelphie reste toujours présent dans la mémoire du cytogénéticien ; tout d'abord considéré comme un chromosome 21 en délétion, il a pu être établi par les techniques de banding qu'il s'agit en réalité d'une translocation intéressant un chromosome 22 et un chromosome 9 (ROWLEY (68), VAN DEN BERGHE (75)). Certains cas de leucémies myéloïdes chroniques présentant des signes cliniques ou une évolution atypique comportent une variation ; si la délétion intéresse toujours le chromosome 22, la délétion du fragment a pu se faire sur un tout autre chromosome.

Dans le cadre des cellules tumorales les progrès sont lents ; les états néoplasiques sont extrêmement variés, tant dans leur origine que dans leur forme histologique. Cependant les techniques des bandes ont pu préciser l'existence fréquente d'un chromosome marqueur défini dans le cancer de l'ovaire ; il s'agit d'un chromosome 5 dont les bras courts sont en délétion (BERGER) (9). Nous avons pu constater à plusieurs reprises la présence d'un tel marqueur dans les échantillons qui nous ont été confiés.

L'analyse des structures fines des chromosomes présente donc un intérêt évident ; mais il est nécessaire qu'une étude anatomopathologique détaillée soit menée parallèlement si l'on veut espérer aboutir à des conclusions valables. Dans le cadre actuel de nos recherches, un diagnostic d'origine basé sur l'examen des cellules métastatiques des liquides d'épanchement, si l'on excepte l'origine ovarienne, reste encore inaccessible.

C O N C L U S I O N S

Le but de ce travail a été d'étudier l'apport des techniques de cytogénétique appliquées aux cellules des liquides d'ascite dans le dépistage de la malignité.

Nous avons retenu pour cela 104 épanchements dont l'origine maligne put être affirmée par ailleurs sur des données irréfutables : cliniques, para-cliniques et anatomo-pathologiques (constatations opératoires ou autopsiques).

Les critères de malignité absolue sont représentés par des mitoses anormales : soit par le nombre des chromosomes, soit par leur structure ; le plus souvent par l'association des deux ; et aussi par des anomalies des noyaux interphasiques : anomalies qui, même isolées, doivent être considérées comme significatives.

L'hyperploïdie, parfois très importante, est notée de façon beaucoup plus fréquente que l'hypoploïdie. Les anomalies de structure sont très habituelles : soit altération globale de la morphologie chromatidienne (Fuzzy des auteurs anglo-saxons), soit modifications des chromosomes portant sur la longueur de l'indice centromérique, ces modifications identiques dans différentes mitoses, chez le même sujet, constituant un marqueur chromosomique.

A ces critères spécifiquement chromosomiques doivent être adjointes les anomalies des noyaux interphasiques ; celles-ci très généralement associées aux précédentes, pouvant également être observées sur des étalements dépourvus de mitoses.

La validité des critères adoptés ci-dessus trouve indirectement sa justification dans l'étude d'une série témoin de 196 ascites présumées bénignes, série constituée pour sa très grande majorité d'ascite de cirrhose non suspecte de greffe d'hépatome.

Les résultats ont été en effet les suivants :

- absence de critère de malignité	85,7 %
- conclusions impossibles	8,7 %
- réserve sur une éventuelle malignité	5,6 %
- malignité affirmée	0 %

Sur les bases indiquées, la malignité a pu être affirmée pour nos 104 épanchements dans 75 % des cas (sur des critères chromosomiques et nucléaires dans 64,4 %, sur des critères purement nucléaires sur 10,6 %). Le pourcentage des suspects étant de 4,5 %, celui des faux négatifs de 20,5 %.

Il convient d'ailleurs de préciser que le taux de positifs s'élève à 88,6 % si l'on exclut le cadre discutable des ascites des hépatomes sur cirrhose et à 96 % si l'on envisage les seules tumeurs malignes de l'ovaire, variété de néoformations malignes la plus commune dans notre statistique.

Les ascites des hépatomes ne sont en effet pour leur plus grande part que des ascites de cirrhose, une proportion plus réduite correspondant à un véritable essaimage péritonéal résultant de l'extension corticale des lésions, du caractère particulièrement exfoliant des nodules ou plus rarement d'une dissémination nodulaire péritonéale diffuse.

L'appoint des techniques cytogénétiques aux techniques cytologiques standards ressort à l'évidence de notre travail. Ces dernières fournissent dans notre série les chiffres suivants :

- malignité (classe IV et V de PAPANICOLAOU)	47,6 %
- suspects	19 %
- faux négatifs	33,4 %

Cette étude apporte donc la preuve irréfutable de la nécessité d'adjoindre, à la cytologie classique, l'exploration en technique cytogénétique dans l'étude des ascites suspectes de malignité.

La réponse au clinicien peut être donnée dans les 24 heures. L'examen des lames au microscope, pratiqué par un personnel entraîné, est à lui seul suffisant pour donner une réponse précise, les photographies nécessaires pour réaliser un caryotype n'étant pas indispensables, sauf cas particuliers.

Les techniques cytogénétiques sont-elles susceptibles d'apporter des arguments en faveur de la nature de la tumeur causale ?

Nous ne pensons pas la chose actuellement possible hormis le cas des tumeurs malignes de l'ovaire où l'ensemble des altérations constatées permet une très forte présomption d'origine.

Le Président de la Thèse,

D. GERMAIN

Le Directeur de l'U.E.R.
de MEDECINE,

C. CABAL

VU et PERMIS d'imprimer
Lyon, le 31 MAI 1977
Le Président de l'Université
Claude Bernard

D. GERMAIN

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ARRIGHI F.E., HSU T.C.
Localization of heterochromatin in human chromosomes.
Cytogenetics, 10, 81-86 (1971).
- 2 - ATKIN N.B.
Perimodal variation of DNA values of normal and malignant cells
Acta Cytol., 13, 270-273 (1969).
- 3 - ATKIN N.B.
Modal DNA value and chromosome number in ovarian néoplasia - a clinical and histopathologica assessment.
Cancer, 27, 1064-1073 (1971).
- 4 - ATKIN N.B.
Chromosomes in human malignant tumors = a review and assessment in chromosomes and cancer - James GERMAN Editor (1974).
- 5 - BENEDICT W.F., PORTER I.H.
The cytogenetic diagnosis of malignancy in effusion
Acta Cytol, 16, 304-306 (1972).
- 6 - BERGER R.
Sur la méthodologie de l'analyse des chromosomes des tumeurs.
Thèse doctorat Sci Nat (Paris) (1968).
- 7 - BERGER R.
Aberrations chromosomiques et radiations ionisantes.
Rev. Europ Etudes Clin et Biol., 15, 375-381 (1970).
- 8 - BERGER R.
Anomalies chromosomiques constitutionnelles et néoplasies.
Presse Médicale, 79, 1107-1109 (1971).

- 9 - BERGER R., LACOUR J.
Anomalies chromosomiques dans un cancer de l'ovaire.
Path. Biol., 22, n° 7, 603-606 (1974).

- 10 - BLOOM A.D., NERIISHI S., KAMADA N., ISEKI T., KEEHN R.
Cytogenetic investigation of survivors of the atomic bombing of Hiroshima and Nagasaki.
Lancet 2, 672-674, 1966.

- 11 - BOVERI T.
Zur frage der entstchung maligner tumoren
Fisher, Jena ; in Theodor BOVERI and his book par Ulrich WOLF in Chromosomes and cancer.
James GERMAN Editor (1974).

- 12 - BURLAT M.
Contribution des techniques de cytogénétique au diagnostic des pleurésies malignes - à propos de 210 cas.
Thèse Lyon (1977).

- 13 - BURNET F.M.
Biology of cancer.
In Chromosomes and cancer - James German Editor (1974).

- 14 - CARPENTIER S., DUTRILLAUX B., LEJEUNE J.
Effet du milieu ionique sur la dénaturation thermique ménagée des chromosomes humains.
Ann. Génét., 15, 203 (1972).

- 15 - CASPERSON T., ZECH L., JOHANSSON C.
Analisis of human metaphase chromosomes set by aid of DNA-binding fluorescent agents.
Exp Cell Res., 62, 490 (1970 b).

- 16 - CHEN T.R., SHAW M.W.
Stable chromosome changes in human malignant melanome.
Cancer Res., 33, 2042-2047 (1973).

- 17 - DENVER Classification.
Proposition d'un système standard de nomenclature des chromosomes mitotiques humains.
Ann. Génét., 1960, I, 35.

- 18 - DIPAOLO J.A., POPESCU N.C., NELSON R.L.
Chromosomal banding patterns and in vitro transformation of Syrian hamsters cells.
Cancer Res., 33, 3250-3258 (1973).
- 19 - DUTRILLAUX B., GROUCHY J. de, FINAZ C., LEJEUNE J.
Mise en évidence de la structure fine des chromosomes humains par digestion enzymatique (pronase en particulier).
C.R. Acad Sci (Paris), 273, 587 (1971 b).
- 20 - DUTRILLAUX B.
Nouveau système de marquage chromosomique : les bandes T
Chromosoma (Berl.), 41, 395 (1973a).
- 21 - DUTRILLAUX B., LAURENT C., COUTURIER J., LEJEUNE J.
Coloration par l'acridine orange de chromosomes préalablement traités par le 5 bromodeoxyuridine (BUDR).
C.R. Acad Sci (Paris), 273, 587 (1973a).
- 22 - DUTRILLAUX B.
Sur la nature et l'origine des chromosomes humains.
Monographies des annales de génétique (1975).
- 23 - EVANS H.J.
Effects of ionizing radiation on mammalian chromosomes.
in Chromosomes and cancer - James GERMAN Editor (1974).
- 24 - FLEISCHMAN E.W., PRIGOGINA E.L.
Karyotype peculiarities of malignant lymphomas.
Hum. Genet., 35, 269-279 (1977).
- 25 - FRAISSE J., MONTARRY M., BERARD J., BRIZARD C.P.
Notes préliminaires sur l'étude cytogénétique des épanchements pleuraux.
Revue de tuberculose et de pneumologie, 36, n° 6, 997-1002 (1972).
- 26 - FRAISSE J., FRAISSE H.
Apports de la cytogénétique à l'étude des liquides d'ascite.
J.M.L., 1972, 227 -233.
- 27 - FRAISSE J., FRAISSE H.
Intérêt du caryotype des cellules du liquide d'épanchement dans la détection des ascites néoplasiques (à propos d'une statistique de 47 cas).
Lyon Médical, 229, 9, 875-881(1973).

- 28 - FRAISSE J., FRAISSE H.
Diagnosis of malignancy by cytogenetics means.
5 th Pan american cancer cytology Congress : Salsbourg 1973.
- 29 - FRAISSE J., FRAISSE H.
Etude cytogénétique d'une ascite néoplasique avant et après traitement chimiothérapique.
Lyon Médical, 233, 3, 223-226 (1975).
- 30 - GERMAIN D., REQUIN C., PHILIPPE N.
Les affections génétique à haut risque leucémique.
J.M.L., 53, 1071-1077 (1972).
- 31 - GOODLIN R.C.
Utilisation of cell chromosome number for diagnosing cancer in effusion.
Nature (Lond.), 197, 507 (1963).
- 32 - GORDON DEWALD, DINES D.E., WEILAND L.H., GORDON H.
Usefulness of chromosomes examination in the diagnosis of malignant pleural effusions.
The new England Journal of Medecine, 1976, 1494-1500.
- 33 - GRANT C.J., HESLOT H.
Remaniements chromosomiques induits par les nitrosamines chez "Vicia Faba" et leur relation avec le cycle mitotique.
Ann. Genet., 8, n° 2, 98 (1965).
- 34 - GROUCHY J. de
Aberrations chromosomiques et processus malins. La notion de continuum entre l'état normal et la mort.
Ann. Genet., 9, n° 2, 55 (1966).
- 35 - GROUCHY J. de, NAVA C. de
Effets cytogénétiques de la Rubidomyicine (ou Daunomycine).
Ann. Genet., II, n° I, 39 (1968).
- 36 - GROUCHY J. de, TURLEAU C.
Clonal evolution in myeloid leukemia.
in chromosomes and cancer - James GERMAN Editor (1974).
- 37 - HANSEN-MELANDER E., KULLANDER S., MELANDER Y.
Chromosomes analysis of a human ovarian cystocarcinoma in the ascite form.
J. Nat Cancer Inst., 16, 1067-1081 (1956).

- 38 - HARNDEN D.G.
Specificity of acquired chromosome damage in man.
Proceeding of the fourth international congress of human genetics,
Paris 1971.
- 39 - HARNDEN D.G.
Viruses chromosomes and tumors - the interactions between viruses and
chromosomes in chromosomes and cancer -
James German Editor (1974).
- 40 - ISHIHARA T., MAKINO S.
Chromosomal conditions in some human subjects with non malignant
disease
Texas Repts Biol. Med., 18, 427-437 (1960).
- 41 - ISHIHARA T., SANDBERG A.A.
Chromosome constitution of diploid and pseudo-diploid cells in effu-
sions of cancer patients.
Cancer, 16, 885-895 (1963).
- 42 - ISHIHARA T., KIKUCHI Y., SANDBERG A.A.
Chromosomes of twenty cancer effusions - correlation of karyotypic
clinical and pathologic aspects.
J. Nat. Cancer Inst., 30, 1303-1361. (1963)
- 43 - ISHIMARU T., HOSHINO T., ISCHIMARU M., OKADA H., TOMIYASU T.
Leukemia in atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki.
1 October 1950 - 30 september 1966.
Radiat. Res., 45, 216-233 (1971).
- 44 - ISING U., LEVAN A.
The chromosomes of two highly malignant human tumors.
Acta pathol. et microbiol. Scand., 40, 13-24 (1957).
- 45 - JACOB C.F.
Diagnosis of malignancy by chromosomes counts.
Lancet, 2, 724 (1961).
- 46 - KOHN G., MELLMAN W.J., MOORHEAD P.S., LOFTUS J., HENLE G.
Involvement of C-group chromosomes in five Burkitt lymphoma cell
lines.
J. Nat Cancer Inst., 38, 209-222 (1967).

- 47 - KOLLER P.C.
Cytological variability in human carcinomatosis.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 63, 793-817 (1956).
- 48 - LEGRAND E.
Etude cytogénétique de neuf épanchements néoplasiques.
Thèse, Fondation Bergonié de Bordeaux (1968).
- 49 - LEJEUNE J., BERGER R.
Chromosomes et cancer.
Maladies humaines par aberration chromosomatique, tome III, 223 (1965).
- 50 - LEJEUNE J., BERGER R.
Sur une méthode de recherche d'un variant commun des tumeurs de l'ovaire.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 262, 1885-1887 (1966).
- 51 - LEVAN A.
Chromosomes in cancer tissue.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 63, 774-789 (1956).
- 52 - MALONOV G., MALONOVA J.
Marker band in one chromosome 14 from Burkitt's lymphomas.
Nature, 237, 33-34 (1972).
- 53 - MC DOUGALL J.K.
Effects of adenovirus on the chromosomes of normal human cells and cells trisomic for an E chromosome.
Nature (London), 225, 456-458 (1970).
- 54 - MC DOUGALL J.K.
Adenovirus induced chromosome aberrations in human cells.
J. Gen. Virol., 12, 43-51 (1971b).
- 55 - MEUGE C.
Etude cytogénétique de trois épanchements néoplasiques chez des malades atteints de tumeur ovarienne.
Thèse Bordeaux (1967).
- 56 - MONTARRY M.
A propos de cent épanchements pleuraux d'étiologie variée - apports de la cytogénétique au diagnostic de malignité.
Thèse Lyon (1973).

- 57 - MOORHEAD P.S., SAKSELA E.
Non random chromosomal aberrations - SV40 transformed human cells.
J. Cell. Comp. Physiol., 62, 57-84 (1963).
- 58 - MOREL P., PORTELLI B., BRUNE J., GALY P.
Apports de la cytologie dans le diagnostic des épanchements pleuraux malins.
Lyons Médical, 231, 4, 307-313 (1974).
- 59 - MOURIQUAND C., GILLY C., WOLFF C., PATET J.
Etude in vitro de l'effet du rayonnement sur les chromosomes humains
Int. J. Radiat. Biol., 19, 263 (1971).
- 60 - MOURIQUAND C., GILLY C., WOLFF C.
Action des rayonnements ionisants sur les chromosomes humains.
Cah. Med. Lyon, 47, 4693-4708 (1971).
- 61 - NOWELL P.C., HUNGERFORD D.A.
A minute chromosome in human granulocytic leukemia.
Science, 132, 1497 (1960).
- 62 - NOWELL P.C., MORRIS H.P., PORTER R.Van.
Chromosomes of "minimal deviation" Hepatomas and some other transplatable rat tumor.
Cancer Res., 27, 1565 (1965).
- 63 - OHNO S.
Aneuploidy as a possible mean employed by malignant cells to express recessive phenotypes.
In chromosomes and cancer, James GERMAN Editor (1974).
- 64 - OKSALA T., THERMAN E.
Mitotic abnormalities and cancer.
In Chromosomes and cancer, James GERMAN Editor (1974).
- 65 - PARIS Conférence de 1971
Standardization in human cytogenetics.
Birth Defects : Original article series, vol 8, n° 7, Editor the national foundation New-York.
- 66 - PETER C., NOWELL P.C.
Chromosome changes and the clonal evolution of cancer.
in Chromosomes and cancer, James German Editor (1974).

- 67 - PHILIP P.
Trisomy 8 in acute myeloid leukemia.
Scand J. haematol., 14, 140-147 (1975).
- 68 - ROWLEY J.D.
A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining
Nature (Lond.), 243, 290-293. (1973)
- 69 - SANDBERG A.A., YAMADA K., KIKUGHI Y., TAKAGI N.
Chromosomes and causation of human cancer and leukaemia.
III - Karyotypes of cancer effusions.
Cancer, 20, 1099-1123.(1967).
- 70 - SHAW M.W., CHEN T.R.
The application of banding techniques to tumor chromosomes.
in Chromosomes and cancer - James GERMAN Editor (1974).
- 71 - SUMNER A.T., EVANS H.J., BUCKLAND R.A.
A new technique for distinguishing between human chromosomes.
Nature (New Biol.), 232, 31 (1971).
- 72 - TIEPOLO L., ZUFFARDI O.
Identification of normal and abnormal chromosomes in tumor cells
Cytogenet Cell Genet., 12, 8-16 (1973).
- 73 - TJIO J.H., LEVAN A.
The chromosome number of man.
Hereditas (Lond.), 42, 1, (1956).
- 74 - TURPIN R., LEJEUNE J.,
Les chromosomes humains, Paris 1965, volume I, (1965).
- 75 - VAN DEN BERGHE M.D.
The Ph₁ Chromosome translocation to chromosome 9
Lancet, II, 1030-1031 (1973).
- 76 - ZECH L., HOGLUND U., NILSSON R., KLEIN G.
Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid cell lines from patients with Burkitt and non Burkitt lymphomas.
Int. J. Cancer, 17, 47-56 (1976).

77 - ZUR HAUSEN H.

Virus-cell genome interactions. I. Induction of specific chromosomal aberrations by adenovirus type 12 in human embryonic kidney cells. J. Virol., I, 1174-1185 (1967).

-oOo-

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	4
CHAPITRE I - RAPPEL HISTORIQUE	6
CHAPITRE II - MODIFICATIONS DU CARYOTYPE NORMAL EN DEHORS DE LA CARCINOLOGIE	11
CHAPITRE III - MODIFICATIONS CHROMOSOMIQUES DANS LE CADRE DE LA CARCINOLOGIE ET CRITERES DE MALIGNITE	17
CHAPITRE IV - MATERIEL ET METHODES	23
CHAPITRE V - COMPTE-RENDU DES OBSERVATIONS	33
1 - Etude des ascites bénignes	35
2 - Etude des ascites malignes	41
a) Etude cytogénétique - Données générales	42
b) Etude cytogénétique par appareil	45
b)1 - appareil génital	45
b)2 - cancers primitifs du foie	49
b)3 - Tube digestif et glandes annexes	54
b)4 - Ascites d'origine diverse	61
3 - Etude des 32 cas où le diagnostic clinique est imprécis	64
CHAPITRE VI - JUSTIFICATION DES CRITERES PAR LES RESULTATS	68
CHAPITRE VII - DISCUSSION A PROPOS DE CAS PARTICULIERS	83
CONCLUSIONS	95
BIBLIOGRAPHIE	98

